

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
 United States Patent and Trademark  
 Office  
 Box PCT  
 Washington, D.C.20231  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 14 August 2000 (14.08.00)	
<b>International application No.</b> PCT/JP99/07152	<b>Applicant's or agent's file reference</b> FP99-1015
<b>International filing date (day/month/year)</b> 20 December 1999 (20.12.99)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 22 December 1998 (22.12.98)
<b>Applicant</b> SUZUKI, Kazuo et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

18 July 2000 (18.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	<b>Authorized officer</b> Maria Kirchner Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	---



## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)

To:

SHOJI, Takashi  
6F, SN Iwamotocho Building  
2-10, Iwamotocho 3-chome  
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 04 April 2001 (04.04.01)	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
Applicant's or agent's file reference FP99-1015	
International application No. PCT/JP99/07152	
	International filing date (day/month/year) 20 December 1999 (20.12.99)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor	<input checked="" type="checkbox"/> the agent
<input type="checkbox"/> the common representative		
Name and Address 1) SHOJI, Takashi 2) OSHIMA, Yumiko 1F, Dai-ichi Seno Building 9-9, Iwamotocho 3-chome Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032 Japan	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No. 03-3864-6572	
	Facsimile No. 03-3864-6573	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address
<input type="checkbox"/> the nationality		
<input type="checkbox"/> the residence		
Name and Address 1) SHOJI, Takashi 2) OSHIMA, Yumiko 6F, SN Iwamotocho Building 2-10, Iwamotocho 3-chome Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032 Japan	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No. 03-3864-6572	
	Facsimile No. 03-5822-5852	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  Shinji IGARASHI
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38



## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)

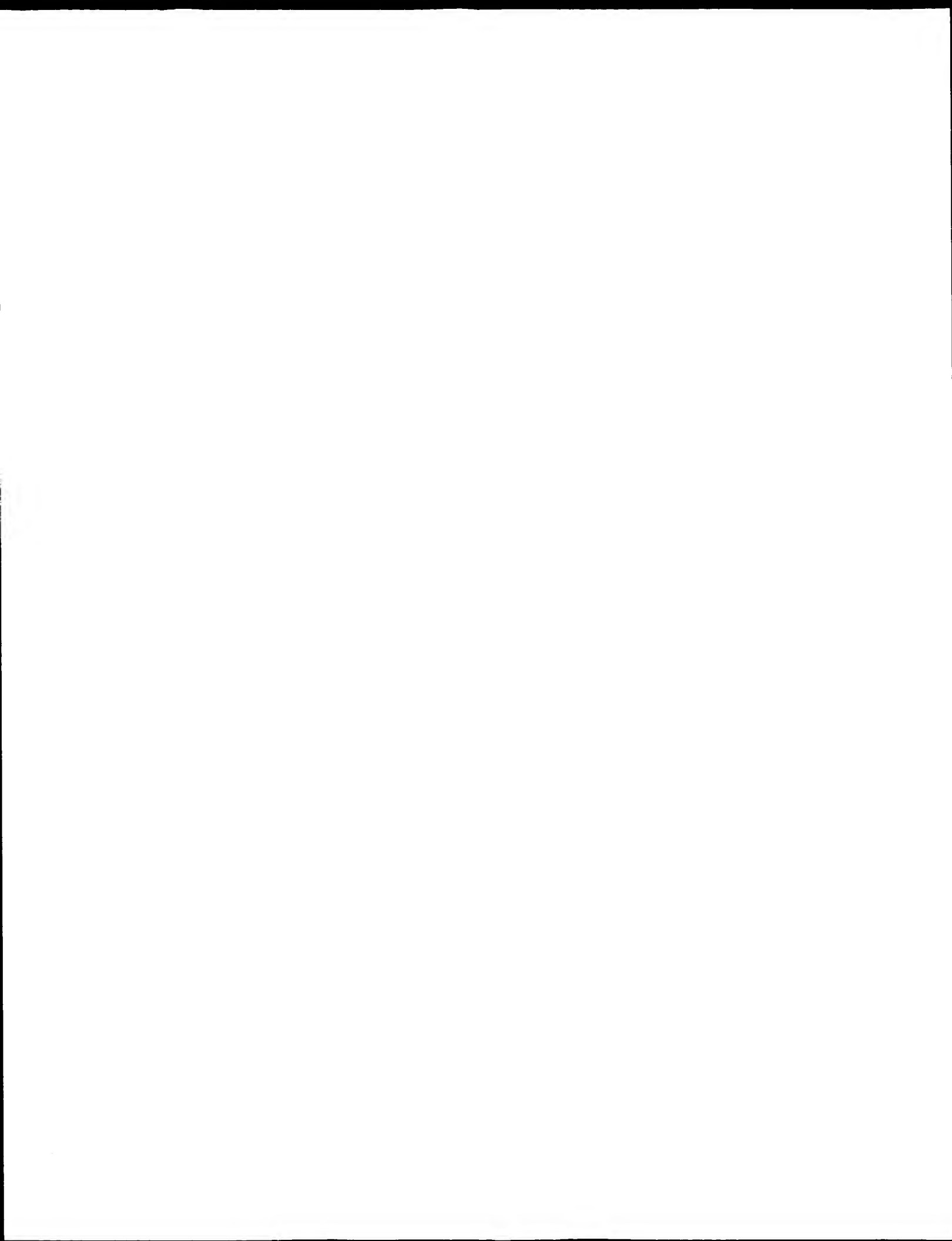
To:

SHOJI, Takashi  
1F, Dai-ichi Seno Building  
9-9, Iwamotocho 3-chome  
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 30 October 2000 (30.10.00)	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
Applicant's or agent's file reference FP99-1015	
International application No. PCT/JP99/07152	International filing date (day/month/year) 20 December 1999 (20.12.99)

1. The following indications appeared on record concerning: <input checked="" type="checkbox"/> the applicant <input type="checkbox"/> the inventor <input type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative		
Name and Address NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES 23-1, Toyama 1-chome Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No. 03-5285-1111	
	Facsimile No. 03-5285-1150	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning: <input type="checkbox"/> the person <input checked="" type="checkbox"/> the name <input type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence		
Name and Address JAPAN as represented by SECRETARY OF NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES 23-1, Toyama 1-chome Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No. 03-5285-1111	
	Facsimile No. 03-5285-1150	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to: <input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office <input type="checkbox"/> the designated Offices concerned <input type="checkbox"/> the International Searching Authority <input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned <input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority <input type="checkbox"/> other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Shinji IGARASHI Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

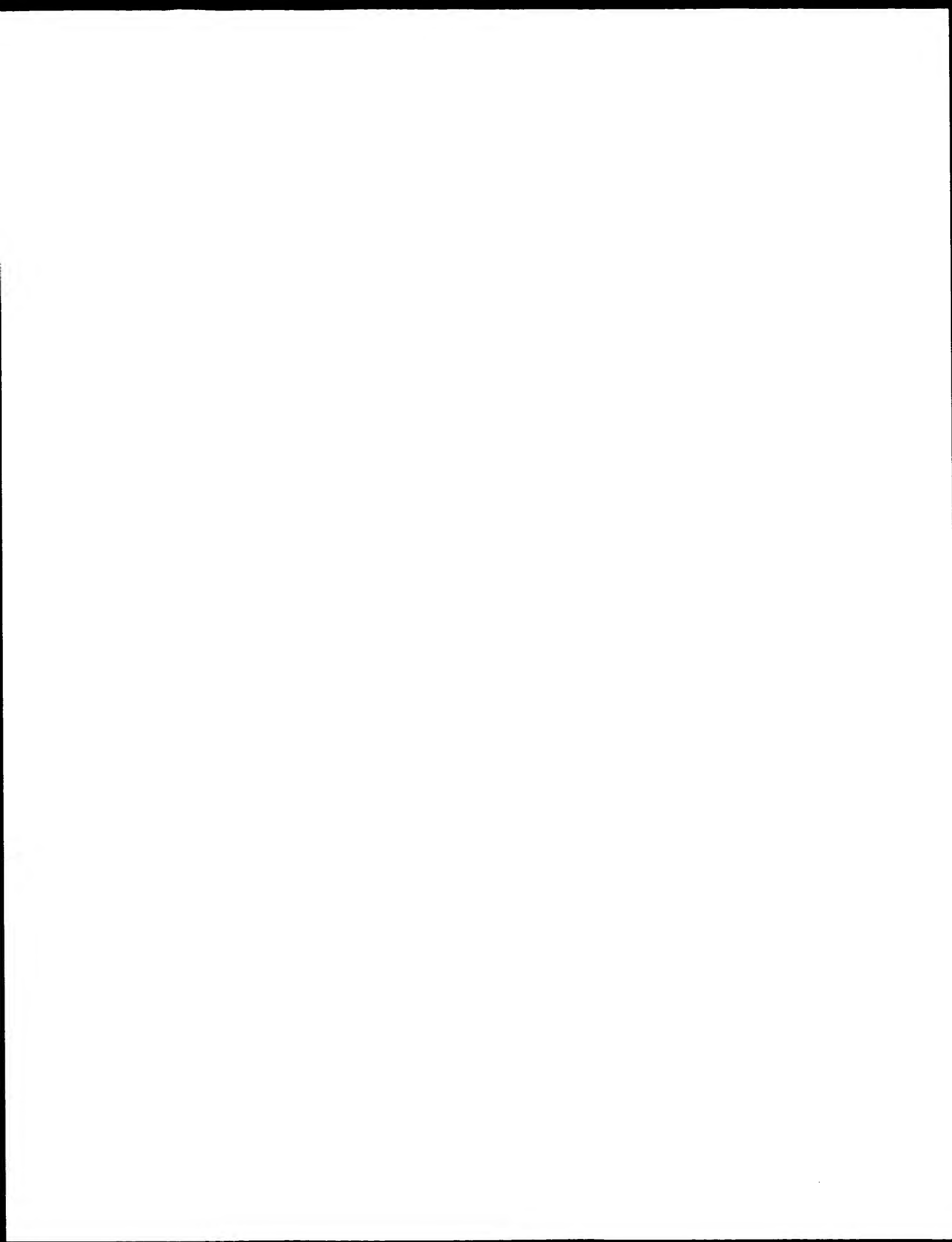
To:

SHOJI, Takashi  
1F, Dai-ichi Seno Building  
9-9, Iwamotocho 3-chome  
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 30 October 2000 (30.10.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference FP99-1015	
International application No. PCT/JP99/07152	
International filing date (day/month/year) 20 December 1999 (20.12.99)	

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input checked="" type="checkbox"/> the inventor	<input type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address SUZUKI, Kazuo 299-4501 日本国千葉県夷隅郡岬町椎木 633 番地 2 663-2,shiigi Misaki-machi Isumi-gun, Chiba 299-4501 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
Telephone No.		
Facsimile No.		
Teleprinter No.		
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence
Name and Address SUZUKI, Kazuo 299-4501 日本国千葉県夷隅郡岬町椎木 663 番地 2 663-2, Shiigi Misaki-machi Isumi-gun, Chiba 299-4501 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
Telephone No.		
Facsimile No.		
Teleprinter No.		
3. Further observations, if necessary: The address in Japanese character of the person in Box 1 has been changed as in Box 2. There is no change of the address in English character.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Shinji IGARASHI
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38





## PATENT COÖPERATION TREATY

各国へ送付  
US, CA, EP

**PCT**  
**NOTIFICATION OF TRANSMITTAL**  
**OF COPIES OF TRANSLATION**  
**OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY**  
**EXAMINATION REPORT**

(PCT Rule 72.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SHOJI, Takashi  
6F, SN Iwamotocho Building  
2-10, Iwamotocho 3-chome  
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 06 September 2001 (06.09.01)	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
Applicant's or agent's file reference FP99-1015	
International application No. PCT/JP99/07152	International filing date (day/month/year) 20 December 1999 (20.12.99)
Applicant JAPAN as represented by SECRETARY OF NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES et al	

**1. Transmittal of the translation to the applicant.**

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

**2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.**

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

EP, CA, US

The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

None

**3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).**

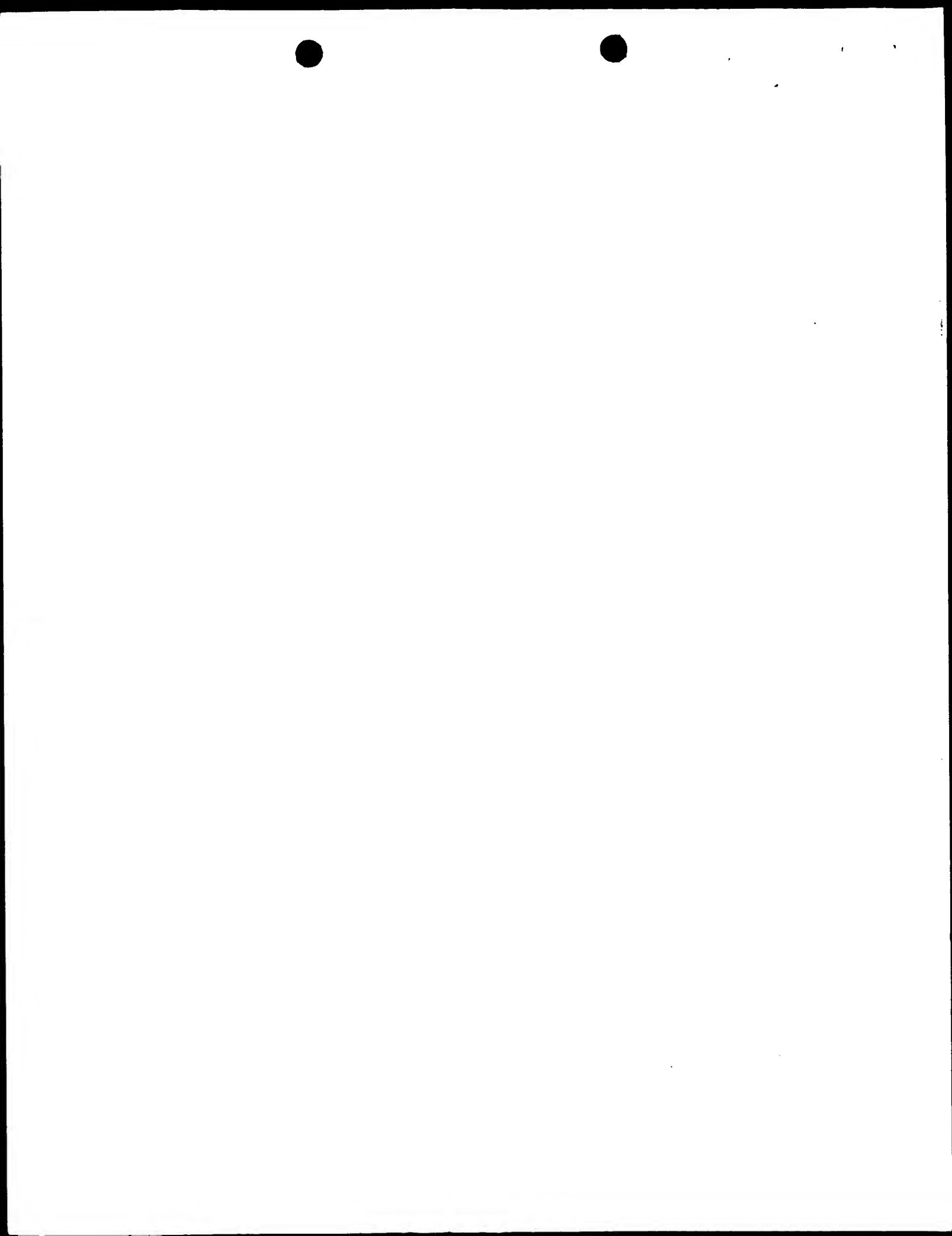
The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  Eliott PERETTI
Facsimile No. (41-22) 740.14.36	Telephone No. (41-22) 338.83.38

Form PCT/IB/338 (July 1996)

4267725



## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

4T  
Translation

79/868953

TECH CENTER 1600 2007

FEB 12 2007

RECEIVED

Applicant's or agent's file reference FP99-1015	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/07152	International filing date (day/month/year) 20 December 1999 (20.12.99)	Priority date (day/month/year) 22 December 1998 (22.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/17, A61P 19/08		
Applicant JAPAN as represented by SECRETARY OF NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 18 July 2000 (18.07.00)	Date of completion of this report 07 March 2001 (07.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

## I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

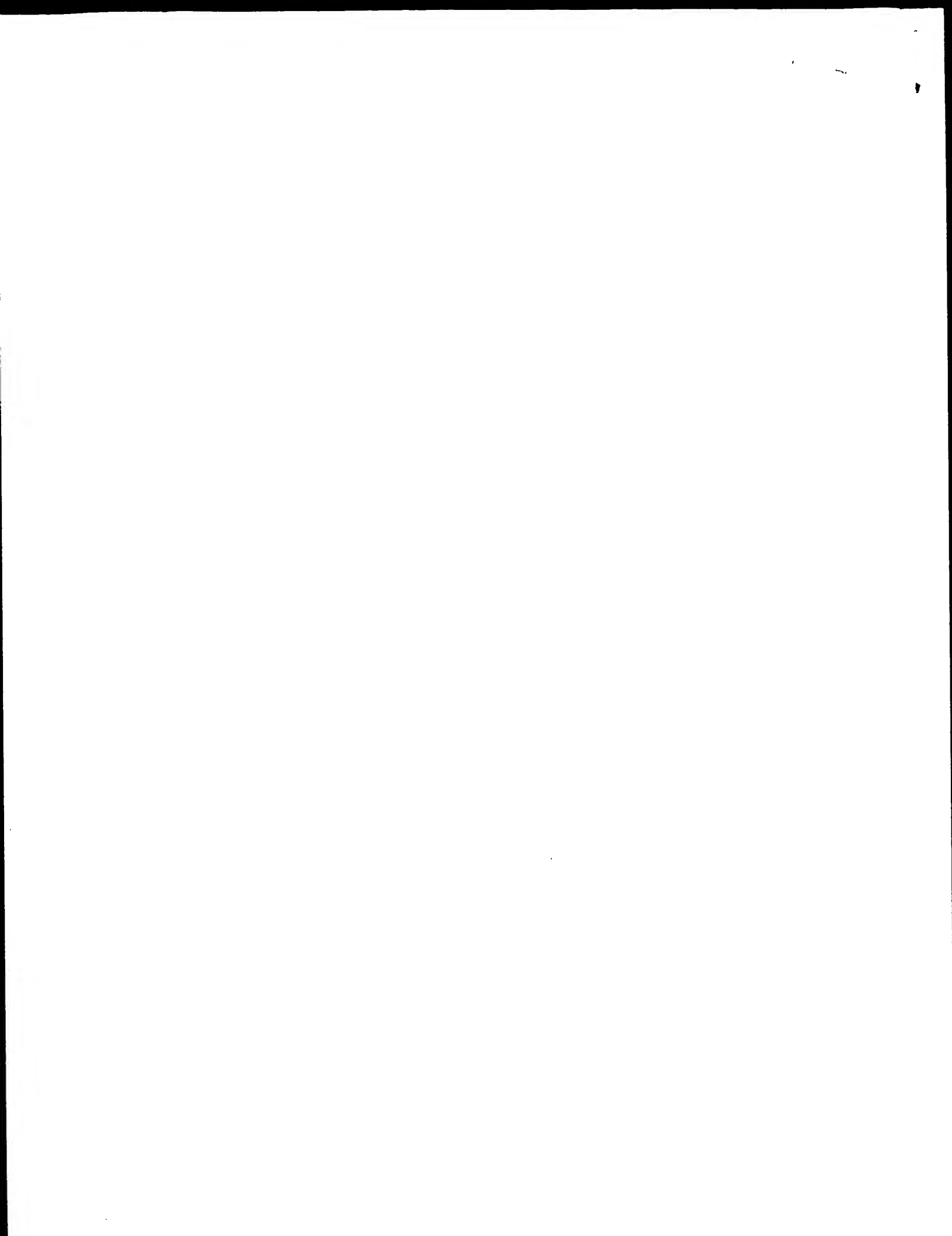
4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 7

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 7 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

The subject matter of claim 7 relates to a method for treatment of the human body by operation or therapy, which does not require an international preliminary examination by the International Preliminary Examining Authority in accordance with PCT Article 34(4)(a)(i) and Rule 67.1(iv).

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

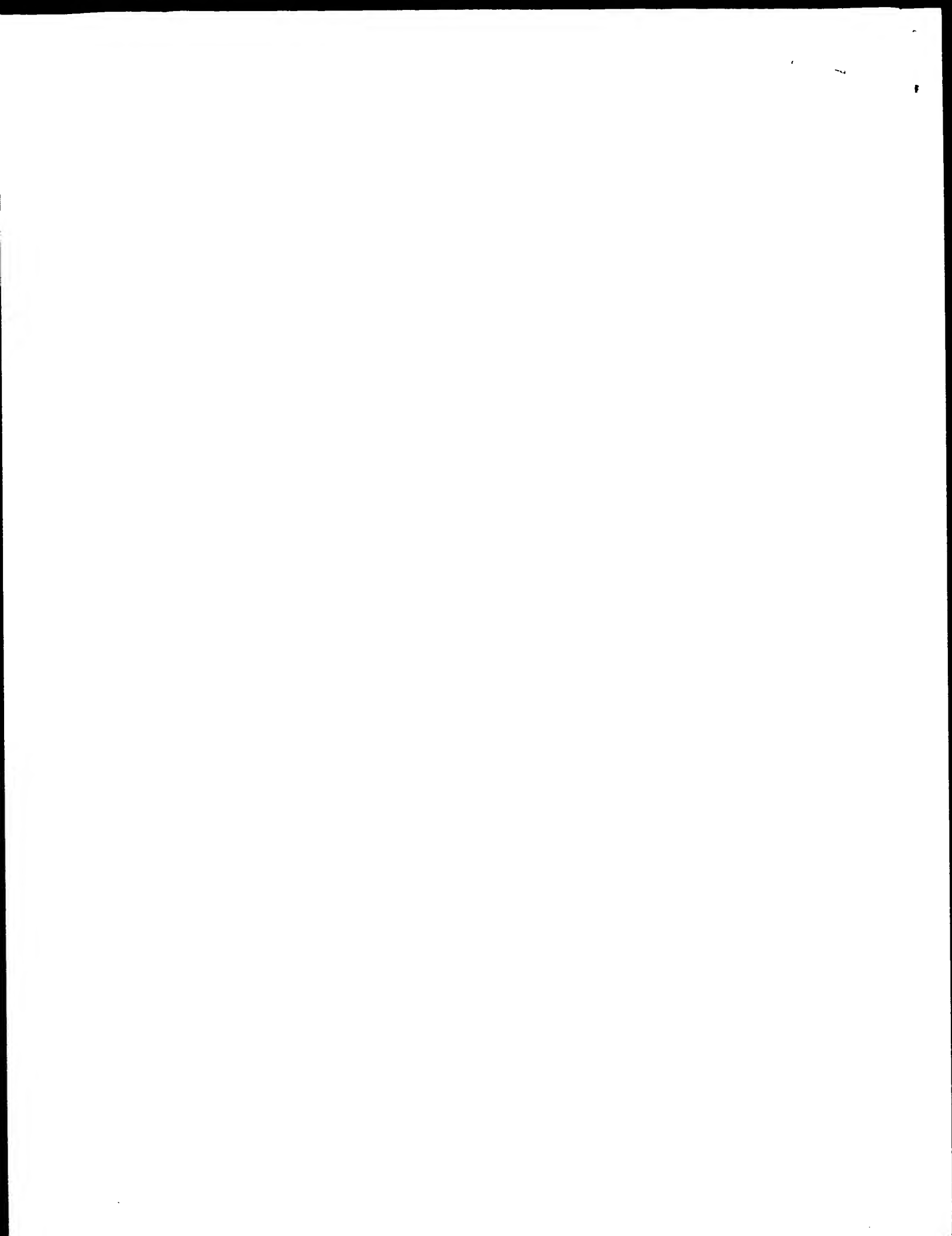
☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 7

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.





## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations****Documents**

Document 1: JP, 8-27020, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 30 January, 1996 (30.01.96)

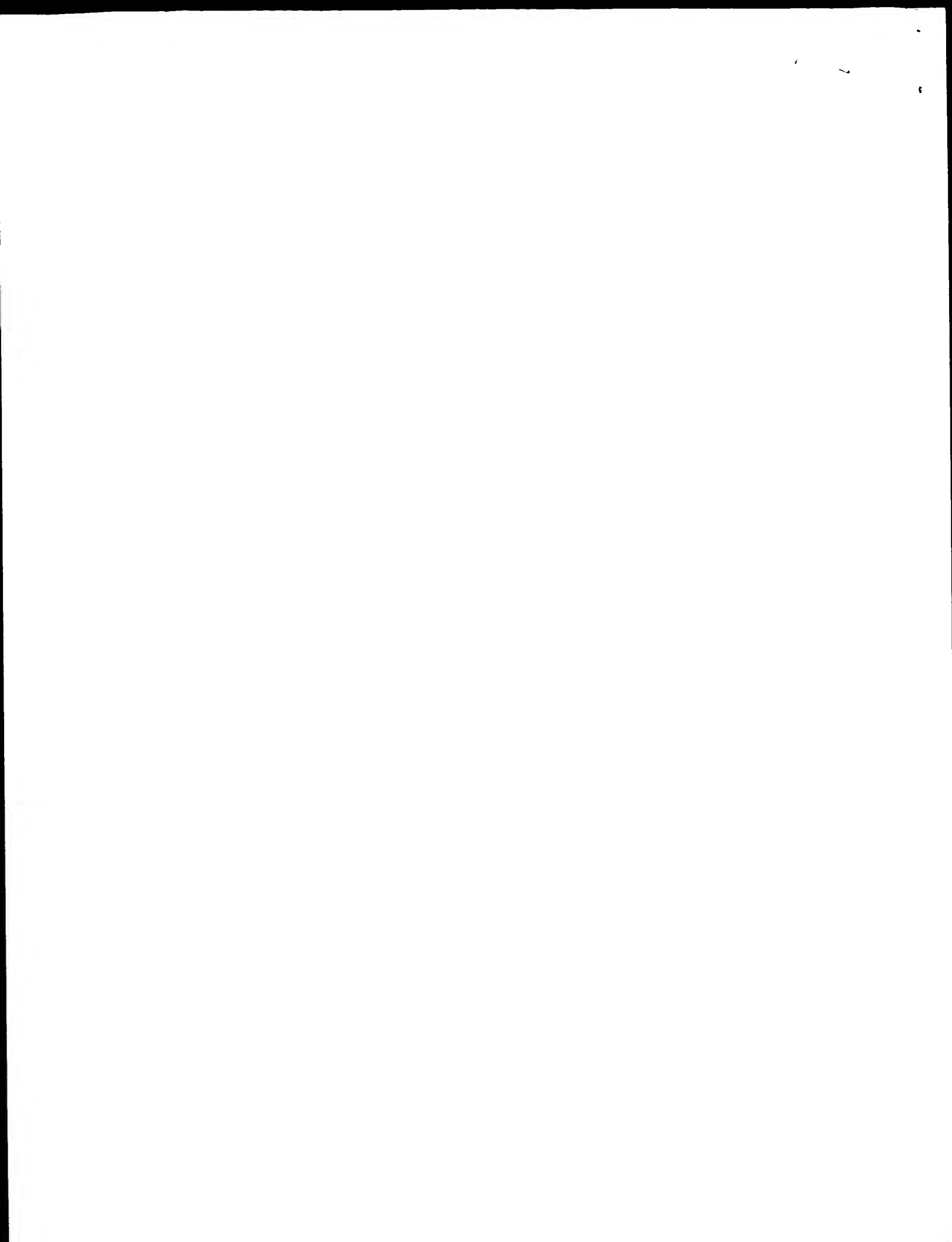
Document 2: Mori et al., "Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II," FEBS Letter, 1997, Vol. 406, No. 3, pages 310-314

Document 3: JP, 10-146189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 2 June, 1998 (02.06.98)

Document 4: EP, 723016, A2 (Kazuo Suzuki), 24 July, 1996 (24.07.96)

**Explanation**

The subject matters of claims 1-6 are not described in any of the documents cited in the ISR and do not appear to be obvious from the documents, either.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

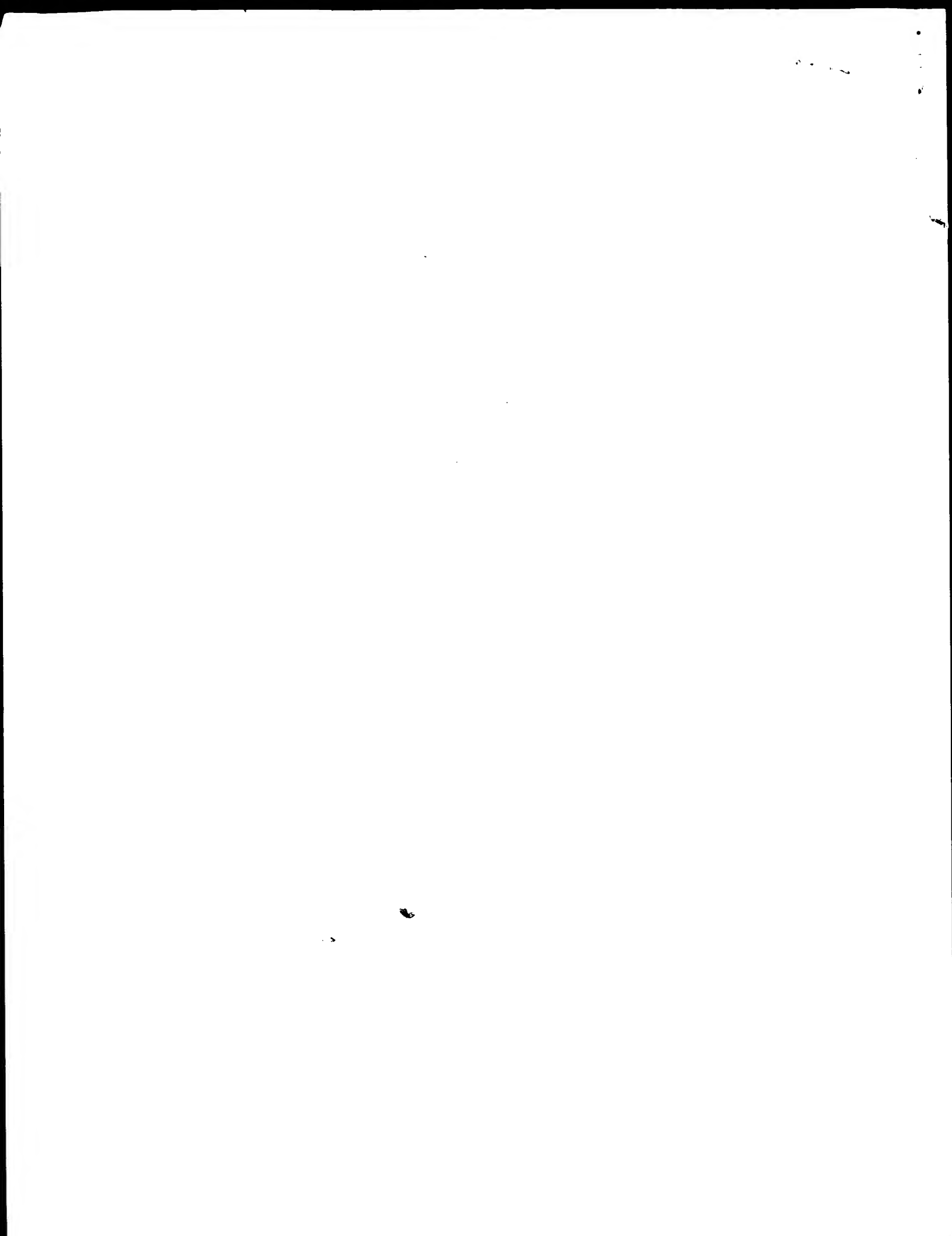
PCT/JP99/07152

## VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

### Claims 1, 2 and 6

Because bone resorption is accelerated by using low concentration LECT2 as described in document 1, among the bone resorption inhibitors of claims 1, 2 and 6 of the present application, those which contain effective ingredients in concentrations within the range described in document 1 do not allow a person skilled in the art to carry out the invention.



4T

特 許 協 力 条 約

REC'D 26 MAR 2001

WIPO PCT

P C T

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 FP99-1015	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/07152	国際出願日 (日.月.年) 20.12.99	優先日 (日.月.年) 22.12.98
国際特許分類 (IPC) Int.Cl <sup>7</sup> A61K 38/17, A61P19/08		
出願人 (氏名又は名称) 国立感染症研究所		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。

(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)

この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

I ☒ 国際予備審査報告の基礎II ☐ 優先権III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成IV ☐ 発明の単一性の欠如V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明VI ☐ ある種の引用文献VII ☐ 国際出願の不備VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 18.07.00	国際予備審査報告を作成した日 07.03.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信	4 C 2938
電話番号 03-3581-1101 内線 6460		



## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)





## Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 7

理由：

- ☒ この国際出願又は請求の範囲 7 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲 7 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第 34 条 (a) (i) 及び PCT 規則 67.1 (iv) の規定によりこの国際予備審査機関が国際予備審査を行うことを要しない対象に係るものである。

- ☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 7 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

- ☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 7 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- ☒ 請求の範囲 7 について、国際調査報告が作成されていない。

2. スクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書 C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。



## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲	1-6	有
請求の範囲		無

進歩性(IS)

請求の範囲	1-6	有
請求の範囲		無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲	1-6	有
請求の範囲		無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

## 文献

文献1: JP, 8-27020, A (三菱化学株式会社), 30.1月.1996(30.01.96)

文献2: MORI et al, 'Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II', FEBS Letter, 1997, Vol. 406, No. 3, pp310-314

文献3: JP, 10-146189, A (三菱化学株式会社) 2.6月.1998(02.06.98)

文献4: EP, 723016, A2(SUZUKI, KAZUO), 24.7月.1996(24.07.96)

## 説明

請求の範囲1-6に記載された発明は、国際調査報告にあげられたいずれの文献にも記載されておらず、また、これらの文献から自明なものでもない。



## Ⅷ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

請求の範囲 1-2, 6 について

文献 1 に記載されているとおり、低濃度の L E C T 2 を用いると骨吸収を促進するため、本願の請求項 1-2, 6 に係る骨吸収抑制剤のうち、有効成分を文献 1 に記載の範囲の濃度で含有するものは、当業者がその発明を実施することができない。



PCT

EP



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 FP99-1015	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JP99/07152	国際出願日 (日.月.年) 20.12.99	優先日 (日.月.年) 22.12.98	
出願人(氏名又は名称) 国立感染症研究所			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

#### 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

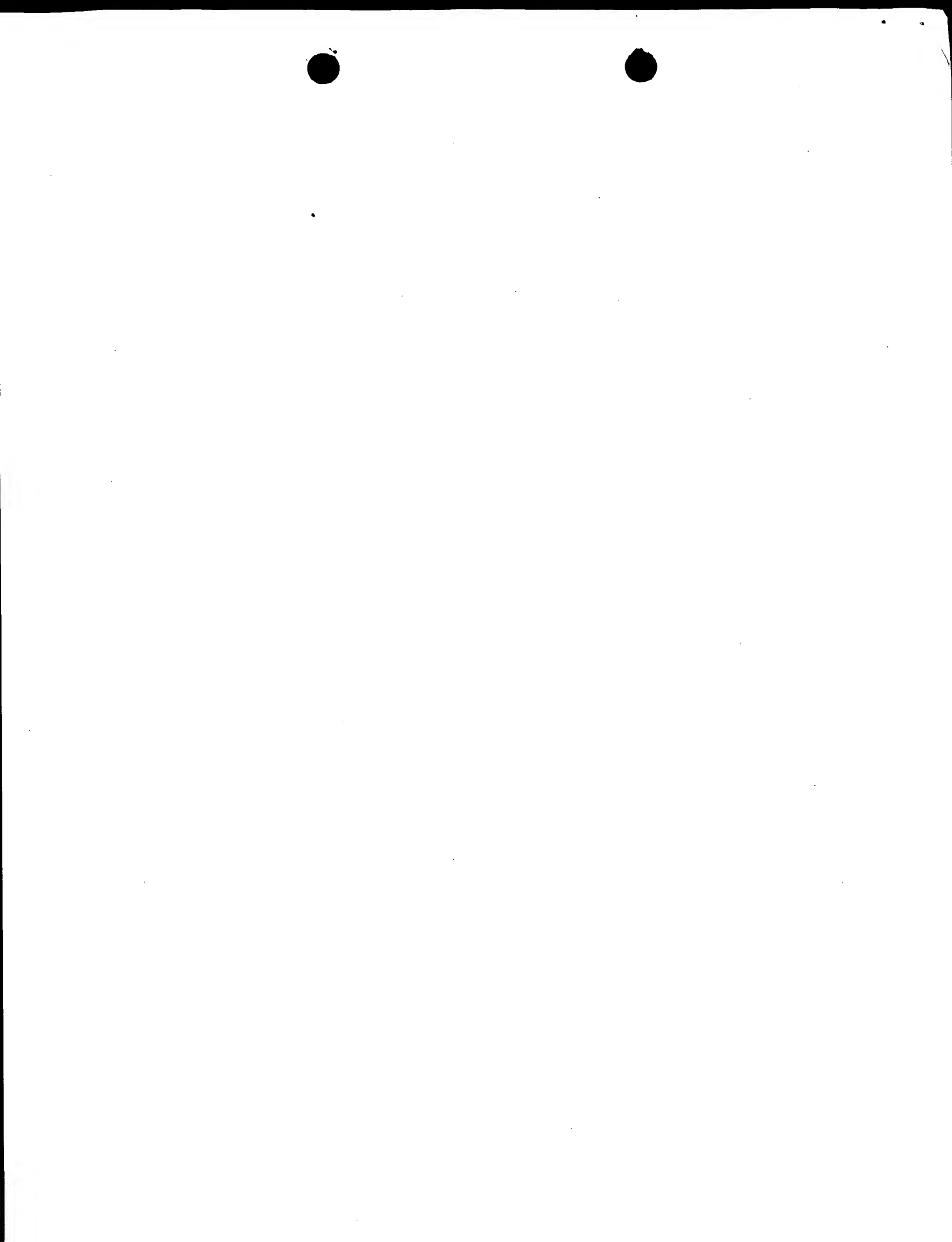
6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。





## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲7は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲                      は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲                      は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

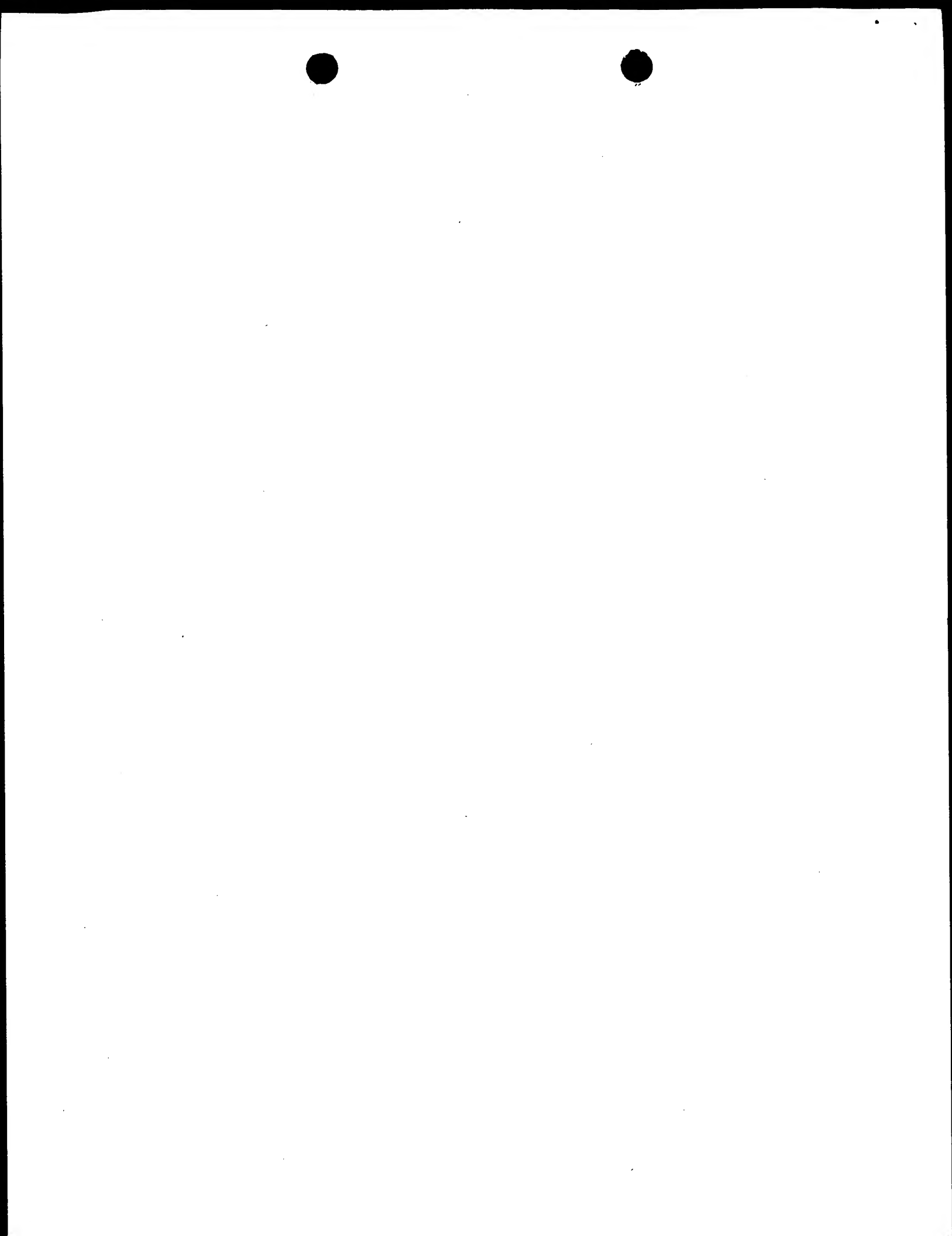
## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> 38/17

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> 38/00-58

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2000年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2000年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN) SwissProt  
 MEDLINE (STN)  
 BIOSIS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 8-27020, A (三菱化学株式会社), 30. 1月. 1996 (30. 01. 96)、全文 (ファミリーなし)	1-7
A	MORI et al, 'Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II', FEBS Letter, 1997年、第406巻、第3号、pp 310-314	1-7
A	JP, 10-146189, A (三菱化学株式会社), 2. 6月. 1998 (02. 06. 98)、全文 (ファミリーなし)	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15. 02. 00

国際調査報告の発送日

29.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4C

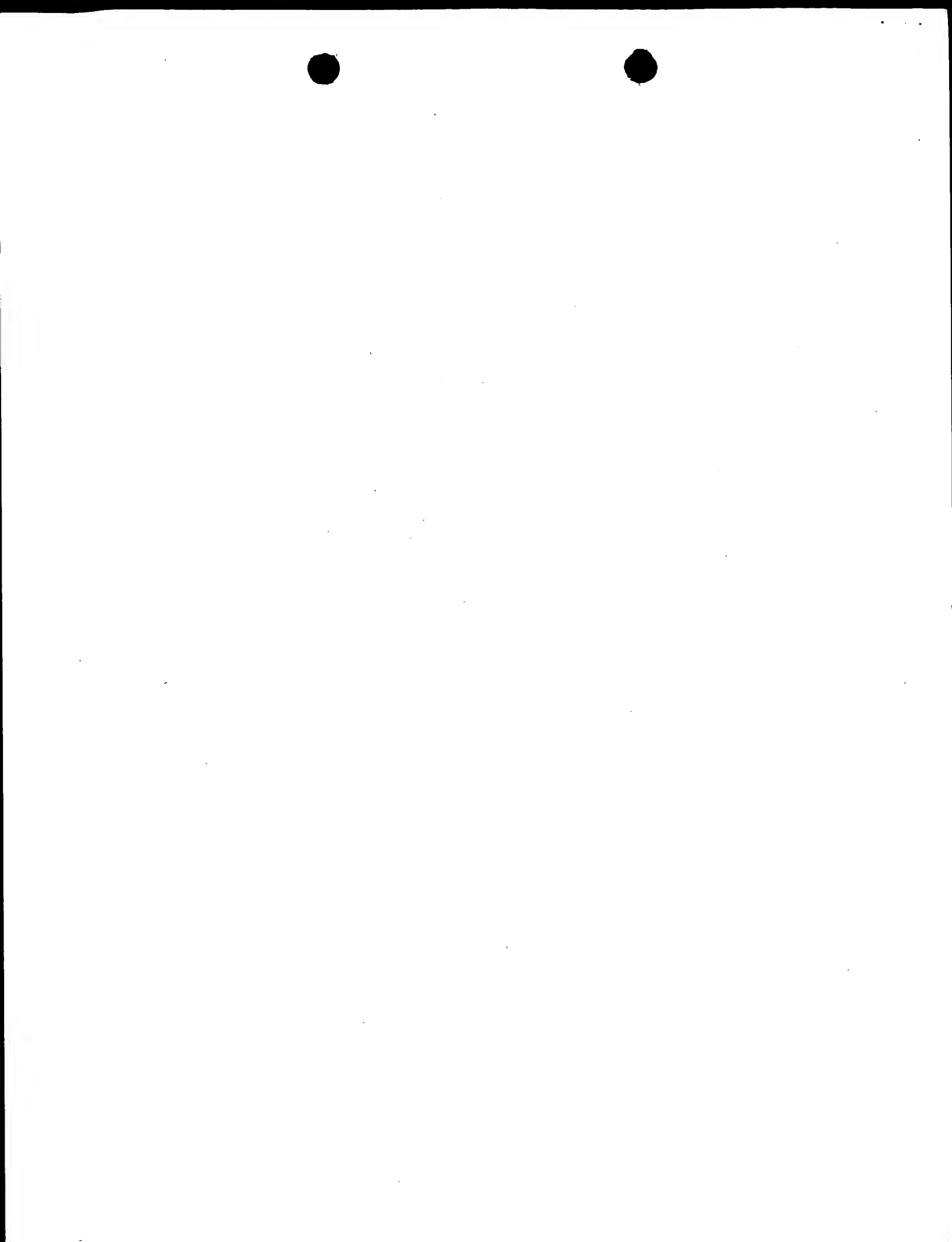
2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450



## C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 7 2 3 0 1 6, A 2 (SUZUKI, KAZUO), 24. 7月. 1996 (24. 07. 96)、全文、& US, 5 9 2 9 2 2 4, A & JP, 8-1 4 0 6 8 3, A	1-7





<b>(51) 国際特許分類7</b> <b>A61K 38/17</b>	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO00/37093</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 2000年6月29日(29.06.00)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP99/07152  <b>(22) 国際出願日</b> 1999年12月20日(20.12.99)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平10/363727                      1998年12月22日(22.12.98)                      JP  <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> 国立感染症研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES) [JP/JP] 〒162-8640 東京都新宿区戸山1丁目23番1号 Tokyo, (JP) <b>(71) 出願人 ; および</b> <b>(72) 発明者</b> 鈴木和男(SUZUKI, Kazuo)[JP/JP] 〒299-4501 千葉県夷隅郡岬町椎木633番地2 Chiba, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 山越 智(YAMAGOE, Satoshi)[JP/JP] 〒277-0084 千葉県柏市新柏1丁目18番地 新柏住宅4棟102号室 Chiba, (JP)		<b>(74) 代理人</b> 山川 徹(YAMAKAWA, Tooru)[JP/JP] 〒160-8515 東京都新宿区四谷1丁目7番地 持田製菓株式会社内 Tokyo, (JP) 庄司 隆, 外(SHOJI, Takashi et al.) 〒101-0032 東京都千代田区岩本町3丁目9番9号 第一瀬野ビル1階 Tokyo, (JP)  <b>(81) 指定国</b> CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)  添付公開書類 国際調査報告書
<b>(54)Title: BONE RESORPTION INHIBITORS</b>  <b>(54)発明の名称</b> 骨吸収抑制剤  <b>(57) Abstract</b> A leukocyte activating protein factor or a substance originating therein having an effect of inhibiting bone resorption; and novel medicinal utilization thereof. Use of these novel substances with the bone resorption inhibitory effect makes it possible to provide therapeutic methods efficacious against hypercalcemia, osteoporosis, etc.		

(57)要約

白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質が骨吸収抑制作用を有することを見出し、このものの新規な医薬用途を提供した。本発明の新規な骨吸収抑制作用を有する物質を使用することにより、高カルシウム血症、骨粗鬆症等に対して有効な治療法を提供することができる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサウ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	JP	日本	NO	ノールウェー	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KE	ケニア	NZ	ニュー・ジーランド		
CZ	チェッコ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク	KR	韓国	RO	ルーマニア		



## 明細書

## 骨吸収抑制剤

## 技術分野

- 5 本発明は、白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来物質を有効成分とすることを特徴とする骨吸収抑制剤に関する。さらに、白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質を利用した骨吸収抑制剤のスクリーニング方法に関する。

## 10 背景技術

- 白血球活性化タンパク質因子 [以下LECT2 (Leukocyte-derived chemotaxin 2) と称することもある。] は鈴木和男らにより見出された好中球走化性因子である (特開平8-140683公報)。ヒトおよびウシLECT2についてはクローニングが行われ、その塩基配列が決定されている
- 15 (S. Yamagoe et al., Immunol. Lett. 52, 9-13, 1996、S. Yamagoe et al, Biochem. Biophys. Acta, 1396, 105-113, 1998)。ヒトLECT2のmRNAはシグナルペプチドと考えられる18個のアミノ酸配列を含む151アミノ酸をコードすることが明らかとなっている。ウシおよびヒトLECT2のアミノ酸配列は、ニワトリ由来のmim-1遺伝子産物と高いホモロジー
- 20 をもっており、このmim-1遺伝子産物の機能は不明であるが、骨髓の前骨髓球の顆粒に含まれ、癌遺伝子のmybが発現調節に関わっていることが知られている。

- 走化性因子として発見されたLECT2の作用については、好中球を活性化することによって、がん細胞破壊反応の亢進や、インターロイキン類の分泌の促進等が
- 25 誘導され、自然免疫能が高められるので、腫瘍免疫としての治療、診断、予後の判定に利用できることが示唆されている。LECT2は好中球の活性化に関連する作用が知られているのみであり、骨に対する作用については全く知られていなかった

(蛋白質 核酸 酵素 42, (7), 1086, 1997)。

一方、鈴木不二男らは、ウシ胎児軟骨より精製された分子量約16KDaのタンパク質であるコンドロモジュリン2を精製した(Y. Hiraki et al, J. Biol. Chem. 271, 22657-22662, 1996)。

5   コンドロモジュリン2は軟骨細胞の増殖、分化を促進することが示されており(特開平5-255398号公報)、また、破骨細胞の形成促進、破骨細胞活性化作用も有することが明らかになっている(特開平8-27020号公報)。最近になり、ホモロジー検索の結果、LECT2とコンドロモジュリン2は同一であることが明らかとなった。

10   破骨細胞は骨組織で骨吸収を目的として存在し、骨のリモデリングに重要な働きをしている多核巨細胞である。破骨細胞の前駆細胞は、造血幹細胞に由来する細胞で、血流を介して骨表面に運ばれ、破骨細胞へと分化する。一方、骨芽細胞は、未分化間葉系細胞や線維芽細胞、間質細胞などの基質形成細胞系に属する前駆細胞から分化し、破骨細胞とは全く細胞系列の異なる前駆細胞から由来している。骨は、  
15   常に骨の形成と骨の吸収を繰り返し、骨リモデリングを行っている。組織学的には骨リモデリングは、破骨細胞による骨吸収が行われ、その後、吸収された部位に骨芽細胞によって骨が作られ、バランスが保たれている。加齢に伴い種々の原因でそのバランスに異常が生じると、骨量が減少し、この状態が長期間続くと骨組織が脆くなり、骨粗鬆症、骨折、腰痛等の各種骨疾患を生じることになる。

20   骨吸収抑制作用を有する薬剤としては、エストロジェン、カルシトニン、ビスフォスフォネート等が知られているが、いずれも副作用が報告されている。このため破骨細胞による骨吸収を効果的に抑制することができ、しかも安全性の高い薬剤が望まれていた。

## 25   発明の開示

本発明の目的は、新規な骨吸収抑制剤を提供することである。

本発明はLECT2又はLECT2由来の物質が骨吸収抑制作用を有すること

を見出したことを最も主要な特徴とする。そして、この知見を利用して新規な骨吸収抑制剤を提供することを実現した。

本発明者らは、鋭意検討を行った結果、LECT 2の骨に対する作用として、骨吸収を抑制する作用、特に破骨細胞に対する骨吸収抑制作用を見出し、本発明を完  
5 成した。

すなわち、本発明はLECT 2又はLECT 2由来の物質を、骨吸収抑制に有効な量含んで成る骨吸収抑制剤に関する。

詳しくは、配列表の配列番号1のアミノ酸番号1～151番又は19番～151番で表されるアミノ酸配列を有するLECT 2又はLECT 2由来の物質を骨吸  
10 収抑制に有効な量含んで成る骨吸収抑制剤に関する。

さらに、本発明の骨吸収抑制剤は、白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質が破骨細胞による骨吸収を抑制する態様である骨吸収抑制剤であってもよい。

本発明はまた、白血球活性化タンパク質因子若しくは白血球活性化タンパク質因子由来の物質を出発原料とし、又はこれらを情報源として調製した骨吸収抑制剤候補化合物について、骨吸収作用についてのインビトロ試験を指標にしてスクリーニング試験を実施し選別することからなる骨吸収抑制剤のスクリーニング方法に関する。  
15

本発明は、前記骨吸収剤のスクリーニング方法によって選別された候補化合物のうち、ピットアッセイによって、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度において80%以上の骨吸収抑制作用を発揮する化合物を選別し、この化合物を有効成分とする骨吸収抑制剤に関する。  
20

本発明の別の態様は、骨吸収抑制剤の製造における、白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質の使用である。

さらに本発明の別の態様は、骨吸収抑制有効量の白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質を投与することを特徴とする動物における骨吸収抑制方法である。  
25

### 図面の簡単な説明

図1： 未分画骨細胞に対するヒトLECT2 (hLECT2) の骨吸収抑制活性をピットアッセイで試験した結果を示す図面である。横軸は、ヒトLECT2濃度を、縦軸は象牙スライス1枚あたりのピット数を示している。ヒトLECT2は1  
5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で約50%の骨吸収抑制活性を示し、10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度では  
ほぼ100%の骨吸収抑制活性を示した。

図2： 精製破骨細胞に対するヒトLECT2 (hLECT2) の骨吸収抑制活性をピットアッセイで試験した結果を示す図面である。未分画骨細胞を用いたピット  
アッセイと同様に、精製破骨細胞を用いたピットアッセイにおいても、ヒトLEC  
10 T2は10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度でほぼ100%の骨吸収抑制活性を示した。

### 発明を実施するための最良の形態

本発明のLECT2は、白血病細胞のような細胞の培養上清からタンパク質をC  
M-セファロースで濃縮し、DEAE-セファロース、CM-セファロース、HP  
15 LCによるハイドロキシアパタイト、逆相クロマトグラフィーにかけることによ  
って精製することができる。例えば、培養したSKW-3などの白血病細胞をPHA  
-Pにより刺激して培養上清中に本発明の白血球活性化因子を放出させ、この上清  
から、カラムクロマトグラフィーなどの手法を用いて、精製することができる。

また、本発明のLECT2又はLECT2由来の物質は、遺伝子工学的手法（特  
20 開平8-140683、特開平10-146189）を用いて作製してもよい。例  
えば、pMALTM-C又はpGEX-3Xをベクターとして作製した形質転換体  
で産生してもよい。宿主細胞としては従来公知の細菌（大腸菌など）、酵母および  
動物細胞を用いることができる。動物細胞としては例えば、チャイニーズハムスタ  
ーCHO細胞、サルCVI細胞、サルCOS細胞、マウス線維芽細胞、マウスC1  
25 27細胞、マウス3T3細胞、マウスL929細胞およびヒトHeLa細胞などが  
あげられる。酵母としては、パン酵母、ビキア酵母等生産系の確立したものが利用  
に便利である。なお、工業生産の目的からは酵母分泌系を利用することが最も簡便

である。

本細胞の培養、培養上清からの本発明のタンパク質の精製、組換えプラスミドの作製、形質転換の方法、さらに形質転換からの精製は公知の方法によって実施することができる。

- 5      本発明で用いるLECT2由来の物質は、骨吸収を抑制するものであれば、特に限定されない。公知のLECT2アミノ酸配列中に1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加、挿入若しくは誘導といった任意の変異を有し、骨吸収を抑制するものも含まれる(Ulmer, K. M., Science, 219, 666, 1983)。さらに、LECT2由来の物質には、キメラタンパク質、融合タンパク質、部分欠失、部分配列および化学的に修飾されたものも含まれる。さらに、LECT2の各種たんぱく質情報(一次、二次、三次構造および立体表面構造)をもとにして創薬されるペプチドあるいは低分子化合物も候補化合物になりうる(特開平5-255398、特開平8-140683、WO/16177)(Li et al., Bioorganic & Medical Chemistry, 4, 1421-1427, 1996)(S.Yamagoe et al., B. B. R. C., 237, 116-120, 1997: Monoclonal Antibody to a Recombinant LECT2)。なお、その由来となるLECT2は骨吸収抑制活性を有する限り、その動物種を問わないが、抗原性を考慮すればヒト由来のものを使用するのが好ましい。
- 10      本発明において、LECT2又はLECT2由来の物質の骨吸収抑制活性は、例えば次のようにして測定される。ウサギより単離した破骨細胞を象牙片上に播種し、翌日に形成されたピットの数に計測する骨吸収活性を見るアッセイ系に、LECT2若しくはLECT2由来の物質又はこれら物質の情報をもとにして創製された修飾化合物を添加し、形成されるピット数の減少により、候補化合物の骨吸収の抑制活性を測定することができる(Takeda et al, Bone and Mineral 17, 347-359, 1992)(亀田ら, 日薬理誌 109, 75-84, 1997)。
- 15      本発明において、LECT2又はLECT2由来の物質の骨吸収抑制活性は、例えば次のようにして測定される。ウサギより単離した破骨細胞を象牙片上に播種し、翌日に形成されたピットの数に計測する骨吸収活性を見るアッセイ系に、LECT2若しくはLECT2由来の物質又はこれら物質の情報をもとにして創製された修飾化合物を添加し、形成されるピット数の減少により、候補化合物の骨吸収の抑制活性を測定することができる(Takeda et al, Bone and Mineral 17, 347-359, 1992)(亀田ら, 日薬理誌 109, 75-84, 1997)。
- 20      本発明において、LECT2又はLECT2由来の物質の骨吸収抑制活性は、例えば次のようにして測定される。ウサギより単離した破骨細胞を象牙片上に播種し、翌日に形成されたピットの数に計測する骨吸収活性を見るアッセイ系に、LECT2若しくはLECT2由来の物質又はこれら物質の情報をもとにして創製された修飾化合物を添加し、形成されるピット数の減少により、候補化合物の骨吸収の抑制活性を測定することができる(Takeda et al, Bone and Mineral 17, 347-359, 1992)(亀田ら, 日薬理誌 109, 75-84, 1997)。
- 25      本発明において、LECT2又はLECT2由来の物質の骨吸収抑制活性は、例えば次のようにして測定される。ウサギより単離した破骨細胞を象牙片上に播種し、翌日に形成されたピットの数に計測する骨吸収活性を見るアッセイ系に、LECT2若しくはLECT2由来の物質又はこれら物質の情報をもとにして創製された修飾化合物を添加し、形成されるピット数の減少により、候補化合物の骨吸収の抑制活性を測定することができる(Takeda et al, Bone and Mineral 17, 347-359, 1992)(亀田ら, 日薬理誌 109, 75-84, 1997)。

この測定による抑制率を指標にして、骨吸収抑制剤の候補化合物をスクリーニングし、例えば、抑制率80%を $10\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で発揮する化合物が選択される。

- 5 本発明の骨吸収抑制剤を使用することのできる骨疾患の例としては、骨粗鬆症、高カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症、ページェット病等があげられる。

本発明の骨吸収抑制剤を治療薬剤として投与する場合には、通常成人1日あたり $0.005\sim 10\text{mg}/\text{kg}$ 、好ましくは、 $0.01\sim 3\text{mg}/\text{kg}$ を1日1～3回に分けて投与すればよく、これらの投与量は、用いる化合物、年齢、症状等により適宜増減することが可能である。

- 10 本発明の骨吸収抑制剤はその投与ルートについては所望により経口的、非経口的、あるいは局所的に投与することができる。経口投与剤としてはタンパク質又はペプチドの場合における消化分解、腸内吸収の問題を考慮して、散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤などの固形製剤あるいはシロップ剤、エリキシル剤などの液状製剤とすることができる。また、非経口投与剤として注射剤、点滴用剤、又は粘膜若しくは
- 15 皮膚吸収の問題を考慮して粘膜投与剤若しくは外用剤とすることができる。

- 剤形についても所望により、必要に応じて、公知の担体等を併用して、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、腸溶解性製剤等の経口投与剤、又は、注射剤（静脈内、筋肉内、皮下、腹腔等）、点滴剤、坐剤等による非経口剤等に製剤化されるものである。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、着色剤、安定化剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味剤、溶解補助剤、粘着剤、乳化剤、リボ
- 20 ソーム製剤、pH調整剤、懸濁剤、コーティング剤、腸吸収促進剤、除放性製剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。

## 25 実施例

以下に実施例をもって、本発明をさらに具体的に説明するが、これらは実施の一例として示すものであり、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。

## 実施例 1

## (1) 未分画骨細胞の調製

ジエチルエーテルを用いた深麻酔により 10 日齢、110 g 前後の仔ウサギを屠殺し、四肢長管骨を採取した。軟組織を取り除いた後、5 % 仔ウシ胎児血清 (FBS) を含むアルファ最小必須培地 ( $\alpha$ -MEM) の中でハサミを用いて細切した。5 十分に細切した骨片と培養液を回収し、vortex ミキサーを用いて骨片に付着している細胞を剥離させ、2 分間静置した後上清を回収することにより未分画骨細胞を調製した。

## (2) ピットアッセイ

10 20 ~ 40  $\mu$ m 厚の象牙スライスを直径 6 mm の円盤状に切断し、70 % エタノール中で超音波処理することにより滅菌を行った。各象牙スライスを PBS、 $\alpha$ -MEM にて洗浄後、200  $\mu$ l の培養液 (5 % FBS 含有  $\alpha$ -MEM) と共に 96 穴プレートのウェルに移し、CO<sub>2</sub> インキュベーター内 (5 % CO<sub>2</sub> / 95 % Air) にて、37 °C、2 時間保温した。2 時間後にウェル内の培養液を完全に取り除き、各濃度のヒト LECT 2 を含む培養液および  $5 \times 10^5$  個の未分画骨細胞を添加した後、さらに CO<sub>2</sub> インキュベーター内 (5 % CO<sub>2</sub> / 95 % Air) にて、15 37 °C、18 時間保温した。18 時間後、ラバーポリスマンを用いて象牙スライスに付着している骨細胞を完全に取り除き、酸性ヘマトキシリン溶液にて数分間染色し、顕微鏡下で象牙スライス 1 枚あたりのピット数を計測することにより破骨細胞の骨吸収活性を求めた。20

図 1 の横軸は本アッセイ系に用いたヒト LECT 2 濃度を、縦軸は象牙スライス 1 枚あたりのピット数を示している。ヒト LECT 2 は 1  $\mu$ g/ml の濃度で約 50 % の骨吸収抑制活性を示し、10  $\mu$ g/ml の濃度でほぼ 100 % の骨吸収抑制活性を示した。

25

## 実施例 2

## (1) 破骨細胞の分離精製

実施例 1 の方法に従って調製した未分画骨細胞をコラーゲンゲル(新田ゼラチン、  
cell matrix type I) でコートしたシャーレに播種し、CO<sub>2</sub>  
インキュベーター内(5%CO<sub>2</sub>/95%Air)にて、37℃、2時間保温した。  
2時間後、シャーレ内の培地を完全に取り除いた後、広口ピペットを用い、10m  
5 1のPBSにて3回洗浄することによりゲル上から細胞を洗い流した。さらに0.  
001% プロナーゼ E/0.02% EDTA溶液を添加し、室温15分静置し  
た後、再び10mlのPBSにて3回洗浄を行った。最後に、0.01% コラゲ  
ナーゼ溶液を添加し、室温5分静置、10mlのPBSによる3回の洗浄を行うこ  
とによって破骨細胞以外の細胞をゲル上から完全に取り除いた。ゲル上に残った破  
10 骨細胞は、0.1% コラゲナーゼ溶液を添加し、室温10分静置することにより  
細胞の足場ごと溶解し、破骨細胞のみを含む細胞浮遊液を回収した。

## (2) ピットアッセイ

実施例 1 で用いた象牙スライス、培養液を用意し、実施例 1 と同様の方法でピッ  
トアッセイを行った。ただし、ここでは未分画骨細胞の代わりに、1ウェルあたり  
15 3000個の精製破骨細胞を用いた。図2には本アッセイ系を用いてヒトLECT  
2の骨吸収抑制活性について調べた結果を示したが、未分画骨細胞を用いたピット  
アッセイと同様に、ヒトLECT2は10μg/mlの濃度でほぼ100%の骨吸  
収抑制活性を示した。

## 20 実施例 3

### (急性毒性試験)

配列番号19番から151番のアミノ酸配列からなる化合物を公知の手法によ  
って調製し、このものを体重20±1gのdd系マウスの一群5匹に0.1mg/  
gを尾静脈より投与した。投与7日後まで観察し死亡例は確認できなかった。

25

## 産業上の利用の可能性

本発明により、LECT2が骨吸収活性を抑制することが判明した。本発明によ



り、高カルシウム血症、骨粗鬆症等に対して有効な治療法を提供することができる。  
さらに、L E C T 2 由来の物質について、骨吸収抑制剤のスクリーニング法が提供  
できた。

## 請求の範囲

1. 白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質を、骨吸収抑制に有効な量含んで成る骨吸収抑制剤。
- 5 2. 白血球活性化タンパク質因子が配列表の配列番号 1 のアミノ酸番号 1 番～1 5 1 番又は 1 9 番～1 5 1 番で表されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 記載の骨吸収抑制剤。
- 10 3. 白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質が破骨細胞による骨吸収を抑制する請求項 1 および 2 に記載の骨吸収抑制剤。
4. 白血球活性化タンパク質因子若しくは白血球活性化タンパク質因子由来の物質を出発原料とし、又はこれらを情報源として調製した骨吸収抑制剤候補化合物  
15 について、骨吸収作用についてのインビトロ試験を指標にしてスクリーニング試験を実施し選別することからなる骨吸収抑制剤のスクリーニング方法。
5. 請求項 4 に記載の方法によって選別された候補化合物のうち、ピットアッセイによって、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度において 80 % 以上の骨吸収抑制作用を発揮  
20 する化合物を選別し、この化合物を有効成分とする骨吸収抑制剤。
6. 骨吸収抑制剤の製造における、白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質の使用。
- 25 7. 骨吸収抑制有効量の白血球活性化タンパク質因子又は白血球活性化タンパク質因子由来の物質を投与することを特徴とする動物における骨吸収抑制方法。

図 1

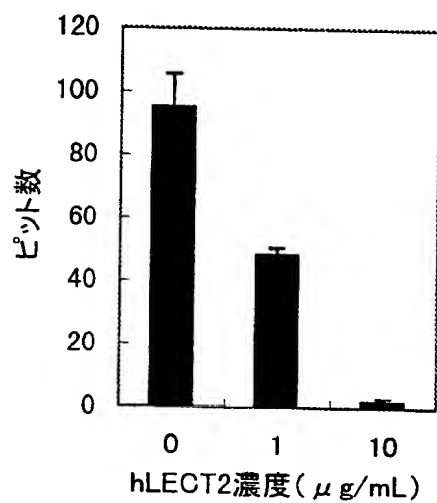
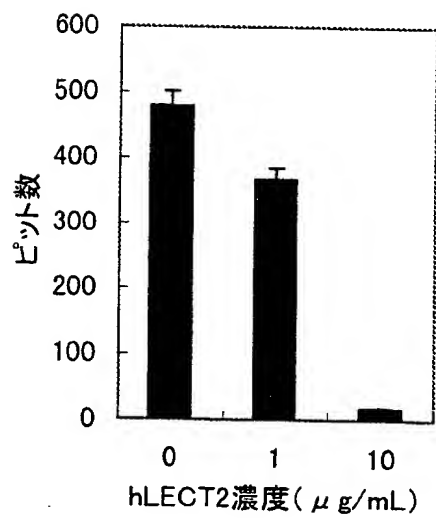
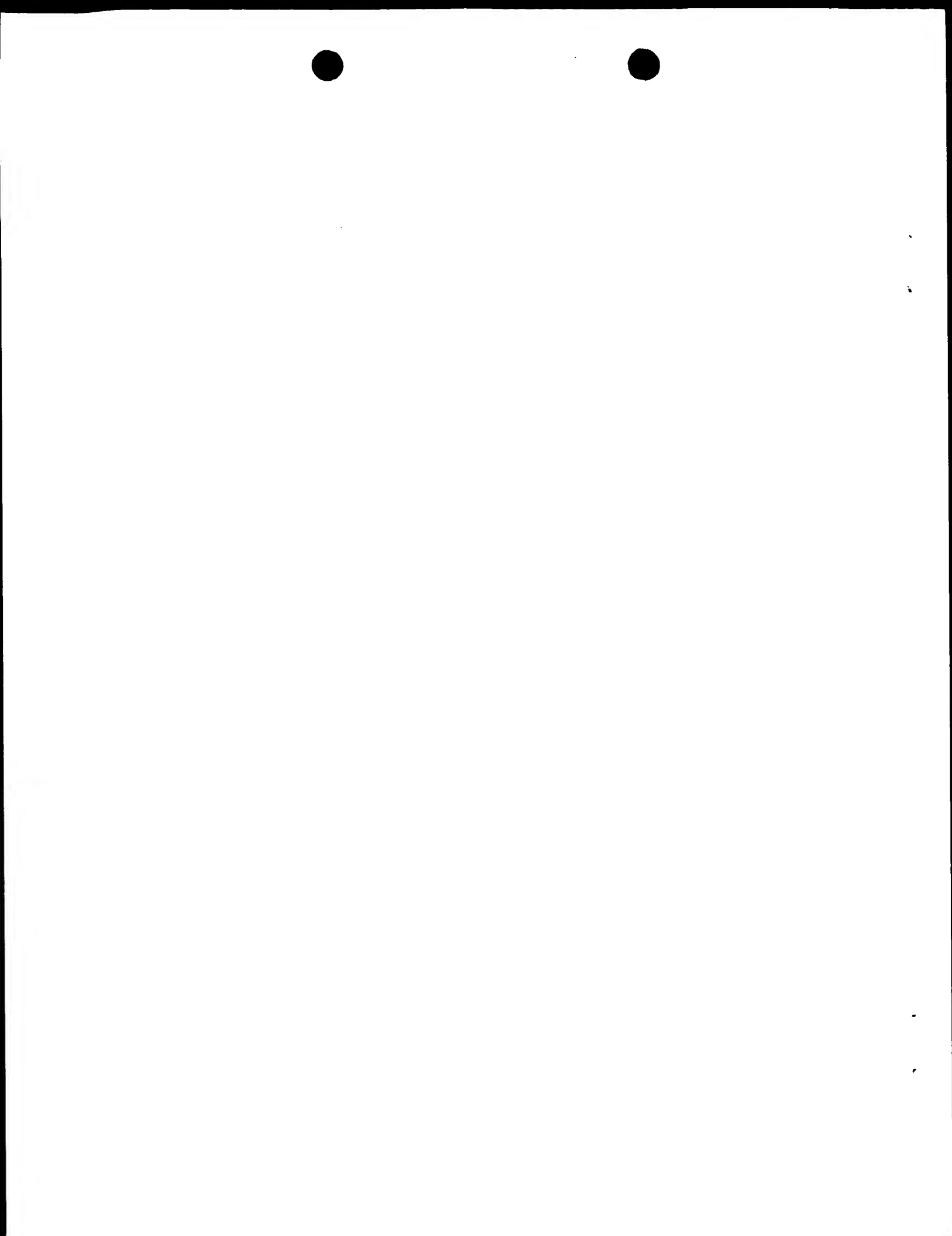


図 2





## Sequence Listing

<110> National Institute of Infectious Disease  
Kazuo Suzuki

5

<120> Agent for inhibiting bone absorption

<130> FP99-1015

10 &lt;160&gt; 1

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

15 &lt;211&gt; 151

<212> PRT

<213> homo sapiens

<220>

20 &lt;221&gt; UNSURE

<222> (58)

<223> Xaa = Val or Ile

<400> 1

25 Met Phe Ser Thr Lys Ala Leu Leu Leu Ala Gly Leu Ile Ser Thr Ala

1

5

10

15



Leu Ala Gly Pro Trp Ala Asn Ile Cys Ala Gly Lys Ser Ser Asn Glu

20

25

30

Ile Arg Thr Cys Asp Arg His Gly Cys Gly Gln Tyr Ser Ala Gln Arg

5

35

40

45

Ser Gln Arg Pro His Gln Gly Val Asp Xaa Leu Cys Ser Ala Gly Ser

50

55

60

10 Thr Val Tyr Ala Pro Phe Thr Gly Met Ile Val Gly Gln Glu Lys Pro

65

70

75

80

Tyr Gln Asn Lys Asn Ala Ile Asn Asn Gly Val Arg Ile Ser Gly Arg

85

90

95

15

Gly Phe Cys Val Lys Met Phe Tyr Ile Lys Pro Ile Lys Tyr Lys Gly

100

105

110

Pro Ile Lys Lys Gly Glu Lys Leu Gly Thr Leu Leu Pro Leu Gln Lys

20

115

120

125

Val Tyr Pro Gly Ile Gln Ser His Val His Ile Glu Asn Cys Asp Ser

130

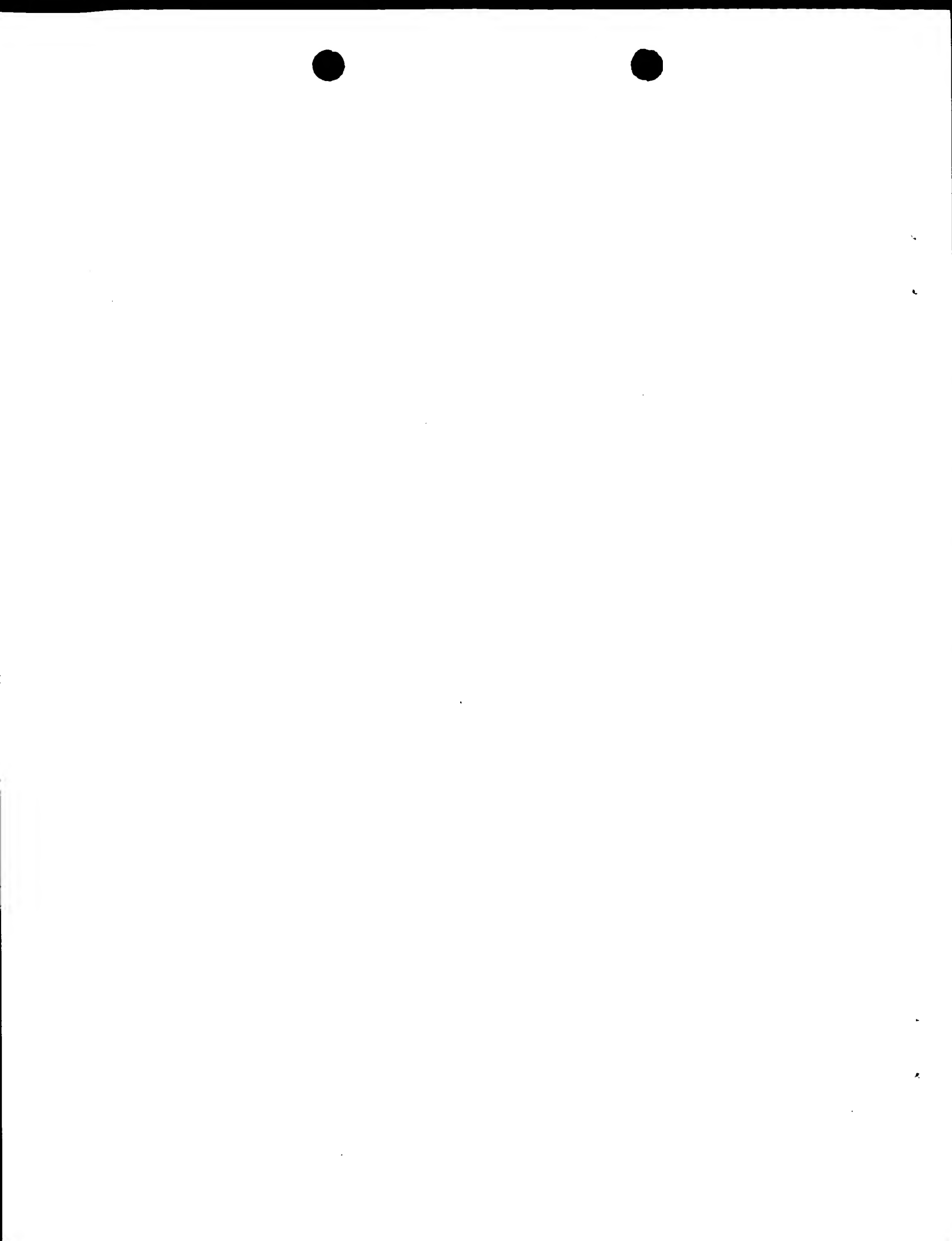
135

140

25 Ser Asp Pro Thr Ala Tyr Leu

145

150





## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> 38/17

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> 38/00-58Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CA (STN) SwissProt  
MEDLINE (STN)  
BIOSIS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-27020, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 30 January, 1996 (30.01.96), Full text (Family: none)	1-7
A	MORI et al, 'Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II', FEBS Letter, 1997, Vol.406, No.3, pp310-314	1-7
A	JP, 10-146189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 02 June, 1998 (02.06.98), Full text (Family: none)	1-7
A	EP, 723016, A2 (SUZUKI, KAZUO), 24 July, 1996 (24.07.96), Full text & US, 5929224, A & JP, 8-140683, A	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance"E" earlier document but published on or after the international filing  
date"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
15 February, 2000 (15.02.00)Date of mailing of the international search report  
29 February, 2000 (29.02.00)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The subject matter of claim 7 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require an international search report by the International Search Authority in accordance with PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/07152

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> 38/17

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> 38/00-58

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2000年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2000年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN) SwissProt  
 MEDLINE (STN)  
 BIOSIS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 8-27020, A (三菱化学株式会社), 30. 1月. 1996 (30. 01. 96)、全文 (ファミリーなし)	1-7
A	MORI et al, 'Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II', FEBS Letter, 1997年、第406巻、第3号、pp 310-314	1-7
A	JP, 10-146189, A (三菱化学株式会社), 2. 6月. 1998 (02. 06. 98)、全文 (ファミリーなし)	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15. 02. 00

国際調査報告の発送日

29.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

印

4C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 7 2 3 0 1 6, A 2 (SUZUKI, KAZUO), 24. 7月. 1996 (24. 07. 96)、全文、& US, 5 9 2 9 2 2 4, A & JP, 8-1 4 0 6 8 3, A	1-7

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲7は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲                                  は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲                                  は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとその国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



10  
11  
12

13  
14  
15

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/17

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2000
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2000	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN) SwissProt  
MEDLINE (STN)  
BIOSIS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-27020, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 30 January, 1996 (30.01.96), Full text (Family: none)	1-7
A	MORI et al, 'Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II', FEBS Letter, 1997, Vol.406, No.3, pp310-314	1-7
A	JP, 10-146189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 02 June, 1998 (02.06.98), Full text (Family: none)	1-7
A	EP, 723016, A2 (SUZUKI, KAZUO), 24 July, 1996 (24.07.96), Full text & US, 5929224, A & JP, 8-140683, A	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing  
date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means  
"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
15 February, 2000 (15.02.00)

Date of mailing of the international search report  
29 February, 2000 (29.02.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07152

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The subject matter of claim 7 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require an international search report by the International Search Authority in accordance with PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2000年
日本国登録実用新案公報	1994-2000年
日本国実用新案登録公報	1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)	Swiss Prot
MEDLINE (STN)	
BIOSIS (STN)	

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 8-27020, A (三菱化学株式会社), 30. 1月. 1996 (30. 01. 96)、全文 (ファミリーなし)	1-7
A	MORI et al, 'Stimulation of osteoblast proliferation by the cartilage-derived growth promoting factors chondromodulin-I and II', FEBS Letter, 1997年、第406巻、第3号、pp 310-314	1-7
A	J P, 10-146189, A (三菱化学株式会社), 2. 6月. 1998 (02. 06. 98)、全文 (ファミリーなし)	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15. 02. 00

国際調査報告の発送日

29.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4 C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450



## C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 723016, A2 (SUZUKI, KAZUO), 24. 7月. 1996 (24. 07. 96)、全文、& US, 5929 224, A & JP, 8-140683, A	1-7



## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲7は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。





(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>  
C12N 15/28

(11) 공개번호 특1997-0065715  
(43) 공개일자 1997년10월13일

(21) 출원번호 특1996-0009150  
(22) 출원일자 1996년03월29일  
(71) 출원인 한국과학기술연구원 김은영  
서울특별시 성북구 하월곡동 39-1 (우:136-130)  
(72) 발명자 최인성  
대전광역시 유성구 신성동 두레아파트 102-1504  
정태화  
대전광역시 동구 용전동 신동아아파트 12-1301  
김재화  
대전광역시 유성구 어은동 남부한빛아파트 120-1201  
이영희  
대전광역시 유성구 궁동 다솔아파트 102-804  
이인애  
대전광역시 대덕구 법동 삼호아파트 4-301  
최용경  
대전광역시 동구 용전동 신동아아파트 1-203  
송재찬  
서울특별시 관악구 신림동 산 56-1  
임종순  
대전광역시 유성구 문지동 104-1  
(74) 대리인 장성구, 조현실

심사청구 : 있음

(54) 인체 조직 유래의 mim-1 상동 유전자

요약

본 발명은 닭의 생체 시스템에서 발암 유전자 myb에 의해서 유도되는 단백질인 mim-1유전자와 상동성을 갖는 인체 조직 유래의 상동 유전자에 관한 것으로 인체의 태아 간조직에서는 발현되는 본 발명의 cDNA 클론 20G06으로부터 예측되는 단백질은 닭의 mim-1 단백질과 77%의 상동성을 보이며 특히 단백질의 생리적인 활성도와 관련이 높은 단백질 분자의 3차 구조를 결정하는데 중요한 역할을 담당하는 시스테인들과 그 주변의 아미노산 서열의 상동성이 잘 유지되고 있다. 이와 같은 인체 조직 유래의 mim-1상동 유전자는 아직 밝혀지지 않은 인체 조절 세포계의 발암 기전을 이해하는 재료로써, 또한 이를 응용하는 암의 진단 시약 및 치료제의 개발에 유용하게 이용할 수 있다.

대표도

도1

명세서

PTO 2003-2949  
S.T.I.C. Translations Branch



[발명의 명칭]

인체 조직 유래의 mim-1 상동 유전자

[도면의 간단한 설명]

제1도는 (A)는 인체 조직 유래 HM206 클론의 부분 염기서열을 나타낸 것이고, (B)는 상기 HM206 클론의 염기서열에서 예측되는 아미노산 서열과 유사성을 갖는 유전자를 데이터베이스상에서 검색한 결과이고, (C)는 상기 HM206 클론의 염기서열에서 예측되는 아미노산 서열을 닭의 mim-1의 아미노산 서열과 비교한 것이고, 제2도는 HM206 클론을 탐색자로 하여 인체 태아 간 조직의 cDNA 라이브러리에서 분리한 각 클론들의 크기와 상대적 위치를 비교한 것이고, 제3도는 본 발명의 인체 조직 유래의 mim-1 상동 유전자의 전체 염기서열 및 이로부터 예상되는 아미노산 서열 나타낸 것이고, 제4도는 본 발명의 인체 조직 유래의 mim-1 상동 유전자의 아미노산 서열과 닭의 mim-1 유전자의 아미노산 서열을 비교한 것이고, 제5도는 인체 태아 각 조직에서 발현되는 인체 mim-1 상동 유전자의 mRNA를 노던 블롯팅 (Northern blotting)한 결과를 나타낸 것이다.

본 건은 요부공개 건이므로 전문 내용을 수록하지 않았음

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 염기서열의 전체 또는 하기 염기서열의 일부로서, 하기 염기서열과 40내지 100%의 상동성을 갖는 유전자를 검색할 수 있는 6개 이상의 염기를 포함하는 인체 조직 유래의 mim-1 상동 유전자 :

```

CTCTAICCTCTTAAACCTTTTGGCTTCACACTAAAGAAATGAGAGATGCAGAAATGCTAA      50
GGCTAAATAGCTAGGAAGTAATTCATTCAAAGTTGAATATTCCTCAAAGAGAGTGTGGGCG      100
CAACTCTAATCAGAGGAAGAAAGCTAAAGGAAGTAAACCAAGATGTTTCCAGCTAAAGCCG      150
                                     M F S T K A
TCTTTTGGCTGGCTCTGATTTCACAGCACTGGCAGGGCCATGGGCTAATATATGTGCTG      200
L L L A G L I S I A L A G P W A N I C A
GCAAGTCTTCAATGAGATCGGACCTGTGACCCCATGGCTGTGGACAGTACTGTGCTG      300
G K S S N E I R I C D R H G C G Q Y S A
AAAGAAGTCACAGGGCTCAGCAGGGCTGTGACATGTTGTGCTGTGGATCTACGTGTG      350
Q R S G R F H G G V D I L C S A G S T V
ACGLATCAITCAGTGAATGATTGTGGGCCAGGAGAAACCTTATCAAAACAAGAATGCCA      400
Y A P F T G M I V G Q E K P Y Q N K N A
TCAATAATGGTGTCTGAATATCTGCAAGAGGTTTTTGTGTCGAAAATGTTCTACATTAAGC      450
I N N G V R I S G R G F C V K M F Y I K
CAATTAAGTATAAAGGTCTCTATTAAGAAGTGAGAAAAACTTGGAACTCTATTGCCCTGGC      500
P I K Y K G P I E K G E K L G T L L P L
AGAAAGTTTATCTGGCATCAATCGCATGTGCACTTGAAGAACTGTGACTCGAGTGACC      550
Q K V Y P G I Q S H V H I E N C D S S D
CTAC TGCATAACCTGTAAGCTGAAGGCAATGGTCAGATCTTCAAAATAAAAAATCATTT      600
P T A Y L *
AAAA
    
```

청구항 2

제1항의 mim-1 상동 유전자 클론에 의해 형질전환된 형질전환체.

청구항 3

제2항에 있어서, 대장균 SOLR/20G06(KCTC 8663P).

※ 참고사항 : 최초출원 내용에 의하여 공개하는 것임.







도면3

```

CTCCATCTCTCTTAAACCTTTTGCTGCTCAGACCTAAGAAATGAGAGATGCGAATTTCTTAA 60
GACTAATAGCTACGAGATATCTTCACCTTGAAATATCTTCAAGAGAGATGCGGAG 120
*
CACTCTCTATCAGAGGCAAGAAAGCTTAAAGGAAGTAAAGCTGATTTTCTGATCTAAGGCT 180
* F S T K A
TCTTTTCTGCTGCTCTGATTTCTATTTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 240
L L L A G L I S T A L A G P R A V I C A
GCAATCTTCTCAATGAGATCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 300
G K S S N E I R T C D R H C C G Q Y S A
AAGAAGTCTGAGAGGCTCTACGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 360
D R I Q D R P H D T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T
AGCAGCTATCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 420
Y A P E T G N I V G Q F K P I D M A N A
TCATATAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 480
I N N G V R I S G R G F C V A H E Y I K
CAATTAAGTATAAGGCTCTATTAAGAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 540
P I K Y K G P I K K G F K L G T L I P L
AGAAAGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 600
Q K V Y P G I D S H V H I E N C D S S D
CTACTGCTATCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT 660
P T A Y L *
AAA

```

도면4

```

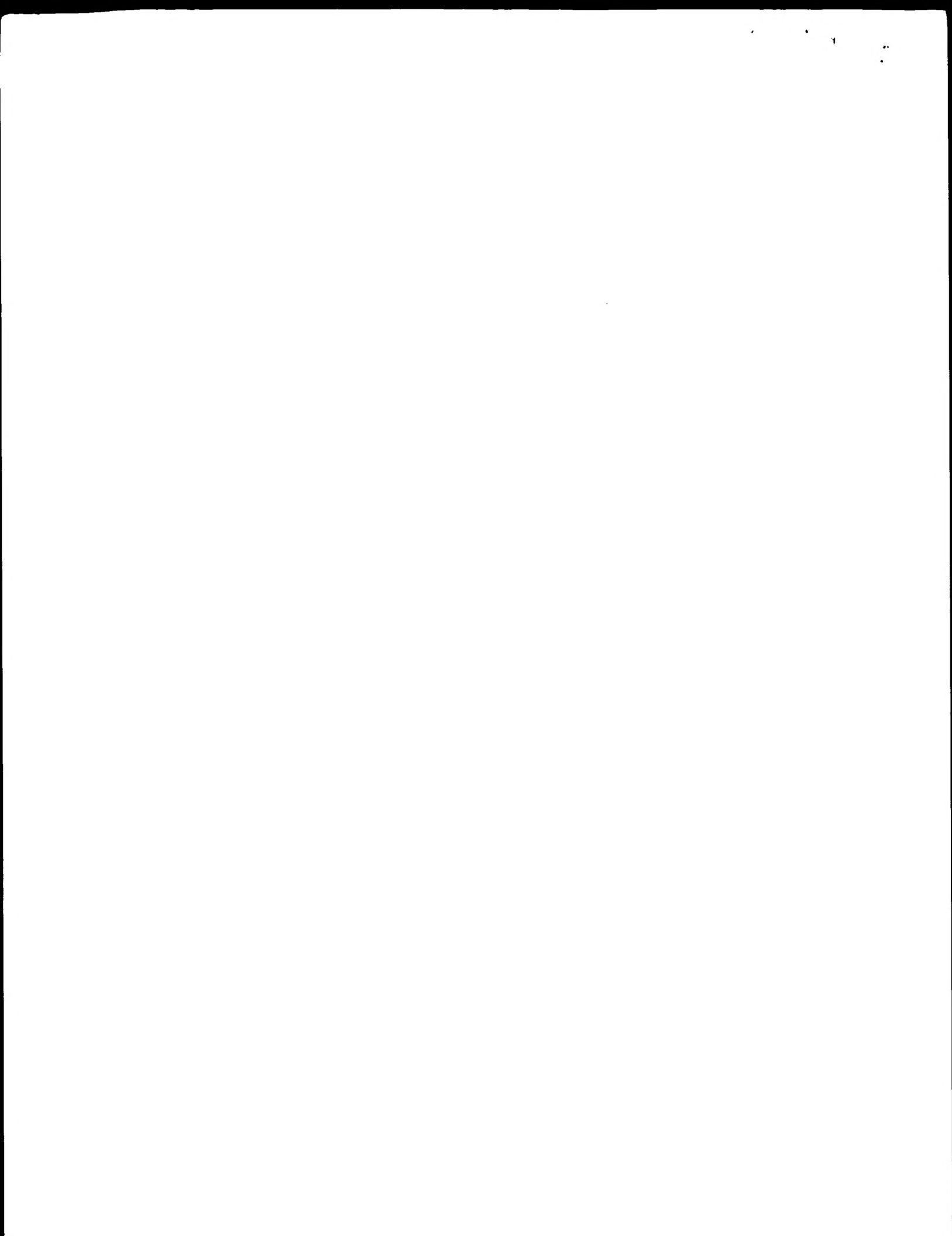
1 20
HNNH HESTNALLALISTALAGP
cnnh HETASLLALISTALAGKATVPPPOUGAH
1 32

21 * * * * 77
HNNH WATCAGASSVEITCDPHCGQYSA--D-RQRPHEVDILCSAGSTVYAFPTQIVGO
cnnh WAGICNGAPPHRIHEDRWCGWYASRQALAKKHK-DATVICTKCSHTAPFSQISGP
33 91

78 * 137
HNNH EEPYDQANATGAAATSSDNGFCAGDYVPIYKDTCAAGALUTLUTLQAVPQUSAV
cnnh EPFEGQNAICDQVNEGSGHQLVQCHPDPHDTQKQDQGLPQKATPQVYSFI
92 151

178 * 151
HNNH HVEACDSQHTAYI
cnnh HVEACDSQPTILF.....DRA
152 161 326

```





도면5





PTO 03-2949

Korean Patent No. 1997-0065715

MIM-1 HOMOLOGOUS GENE DERIVED FROM HUMAN TISSUE

In Sung Choi et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
WASHINGTON, D.C. APRIL 2003  
TRANSLATED BY THE RALPH MCELROY TRANSLATION COMPANY



KOREAN PATENT OFFICE (KR)  
PATENT JOURNAL (A)  
KOREAN PATENT NO. 1997-0065715

Int. Cl. <sup>6</sup> :	C 12 N 15/28
Filing No.:	1996-0009150
Filing Date:	March 29, 1996
Publication Date:	October 13, 1997

MIM-1 HOMOLOGOUS GENE DERIVED FROM HUMAN TISSUE

[Inche jojik youraeui mim-il sangdong youjunja]

Inventors:	In Sung Choi et al.
Applicant:	Eun Young Kim
Examination request:	Filed

Brief description of the figures

In Figure 1, (A) shows the partial base sequence of the HM206 clone derived from human tissue, (B) shows a database search result for a gene which has an amino acid sequence similar to that predicted from the base sequence of the aforementioned HM206 clone, and (C) compares the amino acid sequence predicted from the base sequence of the aforementioned HM206 clone with the amino acid sequence of the chicken mim-1 gene. Figure 2 compares the sizes and relative positions of each clone obtained from a fetal liver tissue cDNA library using the HM206 clone as a probe. Figure 3 lists the entire base sequence of the mim-1 homologous gene derived from human tissue and the sequence of amino acids predicted from the base sequence. Figure 4 compares the amino acid sequence of the mim-1 homologous gene derived from human tissue of the present invention with the amino acid sequence of the chicken mim-1 gene. Figure 5 shows the Northern blot result for mRNA from the human mim-1 homologous gene expressed in fetal liver tissue.

Because the class of this patent issues only the essential parts, we did not publish the full text of this patent.



### Claims

1. mim-1 homologous gene derived from human tissue, which has all or part of the base sequence below, contains 6 or more bases, and can probe genes with 40-100% homology to the following base sequence:

```

C T C A T C C T T T A A A T T T T T G G C T T C A C T A A A G A A A T A G A G A T G C A G A A T T C T A A      60
G G C T A A A T A G C T A G G A C T A T C A T T A A A C T T G A A T A T C T T T A A A G A A A G T G T G C A C C      120
C A A C T T A A T A G A G A A G A A A C T A A A G G A A G T A A A A C A A A T G T T T C C A C T A A A G C C T      180
                                     M F S T K A
T G T T T T G G T G C T C T G A T T T T A A T G C A C T G C A G G G C C A T G G C T A A T A T A T G T G C T C      240
L L L A G L L S I A L A G P W A N I C A
G A A G C T C T A A A T G A G A T C G G A C C T T A A C C C A T G C C T G G G A C A A T A C T G C C T      300
G K S S N E T R L C D R H G C G Q Y S A
A A A G A A T C A G A C G C C T C A C A A C C G T T G G A C A T O I T G T G C C T G T G G A T T Y A A T G T G T      360
Q R S G R F H K G V D I L C S A G S T V
A A G A C A M I C A C T G A A T G A T T G T G G G C A G G A G A A A A C C T T A T C A A A A C A A G A A T C C I A      420
Y A P F T G M I V Q Q E K P Y Q N K N A
T C A A T A A T G G T G T T C A A T A R T G C A A G A G C T T T T T G T G T C A A A A T G T T T A C A T T A A G C      480
I N N C V R I S G R G F C V K M F Y I K
C A A T A A G C A A A A G G T C C I A T T A A G A A G T G A G A A A A A A T T G G A A C T C A T T C C C T T G C      540
P I K Y K G P I K R G E K A G T E L P L
A G A A A G T T A T C T T G G C A T A C A A T G C A T G T A A C A L G A A A A C T G T G A C T G G A G T G A C C      600
Q K V Y P G I Q S H K H L F N C D S S D
C T A C T G A T A G C T G T A A A T C C A A G C C A A T G G T C A G A T C T C A A A A T A A A A A G T A T T T      660
P I A Y L *
A A A A

```

2. Plasmid-transformed organism which was transformed by the mim-1 homologous gene clone claimed in Claim 1.

3. E. coli SOLR/20G06(KCTC 8663P) in Claim 2.

\*Note: Published on the basis of the content of the first application.

Figures





(A)

GTGACGCT TGTCTCTG TGGATGCT GGTGAGGC CATTGCTG AGCATCTG  
 GACAGGGA AGCTTACA AACGCAAT GATATATG ATGATCTG AATATGGA  
 ATGATTTT GTGTCAAT GTTACATT AAGTCTTA GTATAGAG TGTATAGA  
 AGGAGAAA CTGGAATC TATGATTC GAGAGTTA CTGATGAT GCGATGCG  
 CTTGATTC TGACTCTG CATAGCTA GTGCACTG AGATTTAT AATGAGT

(B)

Query: 10200

Translating both strands of query sequence in all 6 reading frames

Sequences producing High-scoring Segment Pairs	Sae/lex		
	Pileup		
	Pending High Probability		
	Frame	Score	P(%)
S:133765 myb-induced myeloid protein 1 precursor - hsl	-1	178	5.8e-19
S:29229 nls-1 protein homolog p33 - chicken	-1	178	5.6e-19
S:14664 large protein 1 - parainfluenza virus type 2	-1	63	0.11
S:828821 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosph...	-2	62	0.11
S:101532 RNA-directed RNA polymerase (EC 2.7.7.48) - s...	-1	62	0.15
S:128821 1-phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate phosph...	-2	59	0.27
S:538336 naringenin 3-dioxygenase (EC 1.14.11.9) - cal...	-2	56	0.45
S:532147 naringenin 3-dioxygenase (EC 1.14.11.9) - Chi...	-2	56	0.45
S:541035 hypothetical protein R10612.2 - Caenorhabditis...	-1	58	0.47

(C)

S:529229 nls-1 protein homolog p33 - chicken

Length = 200

Identities = 33/61 (54%), Positives = 45/61 (73%), Frame = -1

Query: 1 VVNLCSAGSTVAPPTGHVGGEPYQKXATNNGRISGRGFCXKNEYINPKYV  
 VGV-C- G-TVYAP-C- G- K- A-NAL-S-S-I-C GFCXK- I-P-E-Y  
 Sbjc: 110 VVNLCAATVATVALLSPVTFHNGATLGGVGRSGFVATLLIEPIRYN

GPICK 183

G I \*

GRISA 170

Figure 1



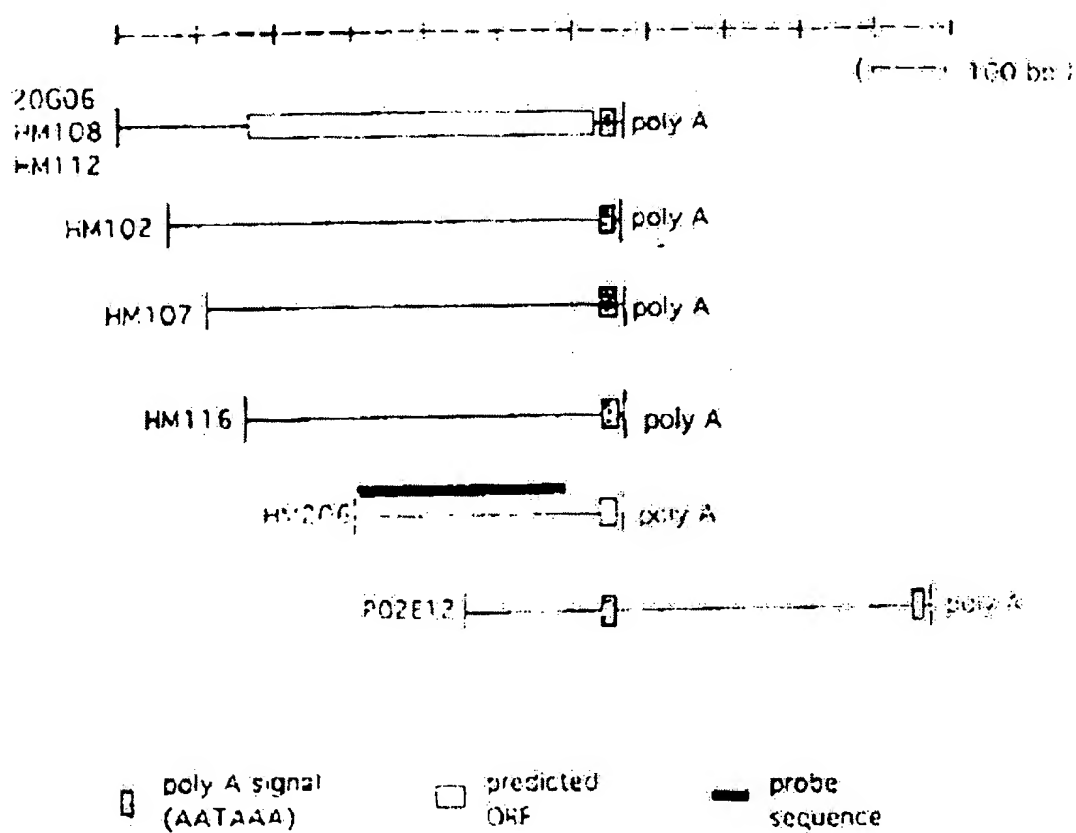
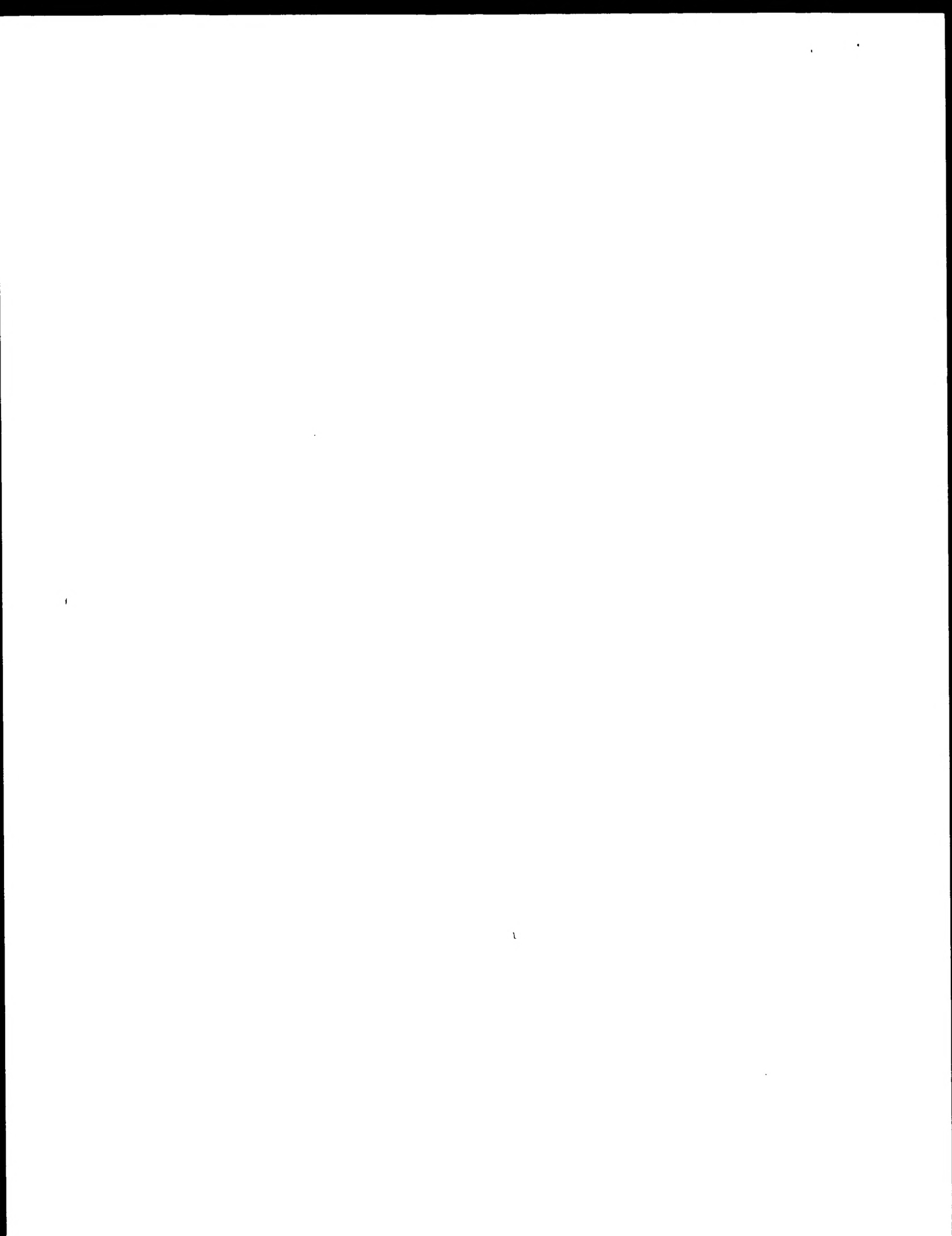


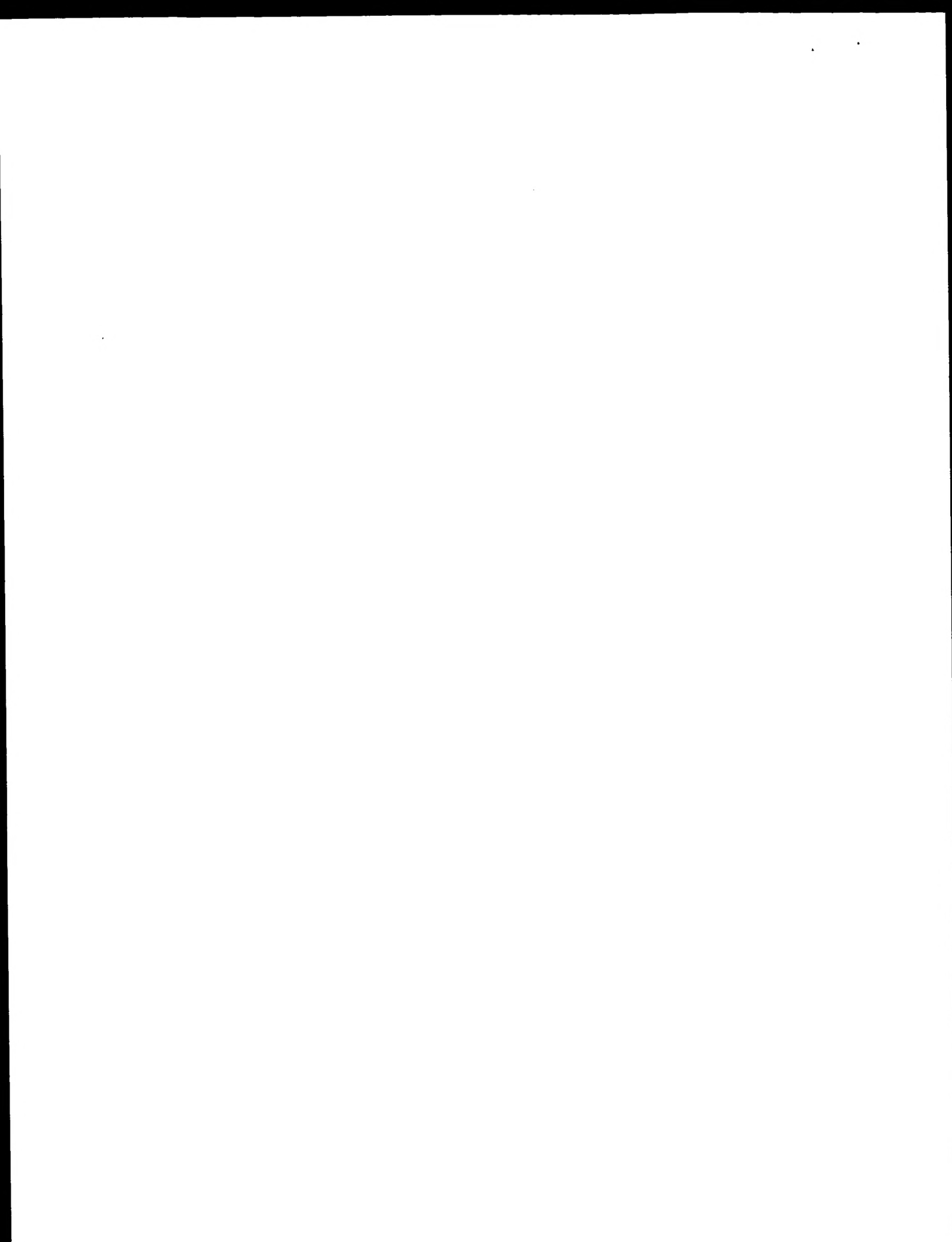
Figure 2



CTCCATCTCTTAACCTTTTGGGTTGACACCTAAGCAATGAGAGATCCAGATTCTTA 100  
 GACTAATAGCTACGAGGATTCATTCAGCTTGAAATATTTTCAGAGAGATGTCGGGG 120  
 CAACTCTATTCAGAGGAGAAATATTAAGGAAATATAAAGCAATGCTTTTCTACCAAGCC 180  
 TCTCTTTCCTGCTGCTGCTGATTCTATTTTACTGAGAGGAGGATGCGCTAATATCTGCTC 240  
 L L L A G L I S T A L A C P R A V I C A  
 GCAATGTTTCCAAATGAGATCCGAGCTGTGACCGCCATGCGCTGTGAGAGCTACTCTGCTC 300  
 G E S S N E I R T C E R H C L C Q Y S A  
 AAAGAGTCAGAGGCTCTACCAAGGCTGTGAGCATCTTCTGCTCTGCTGAGCTACTCTGCTC 360  
 C R I D R P H D I I I I I I I I I I I  
 AGGAGGATTCATTCAGGATGATTTGCGGCGAGAGAGAGCTTATTAAGAGAGAGATCTTA 420  
 Y A P E T G N I V G Q F A P Y D N A A A  
 TCAATATGCTTTTCTCAATATCTGAGAGAGCTTTTCTGCTCAATGCTTTACATTAAGC 480  
 I N N G V R I S G R G F C V I H E Y I K  
 CAATTAAGTATAAAGCTCTTATTAAGAGCGAGAAAGCTTGAAGCTCTATGCGCTTGT 540  
 P I K Y R G P I K E C F K L C T E F P E  
 AGAAGCTTTATCTCTGCAATACATCTGCTGCTGCAATTAAGAGCTGAGCTGAGCTGAGC 600  
 Q K V Y P G I D S H V D I E N C D S N D  
 CTACTGCAATCTCTGAAATCGAGGCAATGCTCAGATCTTCAGATTAAGAGCTATCTT 660  
 P T A Y L •

4400

Figure 3



		1	20
AMIN		WESTALLUCLISTN AGP	
CHIM		MTALSLIALLSLISTN AGPTEVPPQUGRH	
		1	32
	21		77
AMIN		WANTCAGKSSNEINTCDRH.CGQYSA--D-RGQRPHGSDILCS AGSTLYAFETQ LVGQ	
CHIM		WAGIENG-PENRIKCPRI CGWYUASHGAGAKMK-DYDICTNCSLYAFESQI SGF	
	33		91
	58		107
AMIN		EPFIDKGNATKQVRISQWFC-PGNYEPIKA TLKGFDELTLLDAVDPQS-F	
CHIM		EPFS-GQVATCDGVNFSQSMVQVQHPHP-HQDQACQJGR LPQVLPPTVSH	
	92		131
	138		151
AMIN		HTENCDSQPTATL	
CHIM		HYENCDSQPTIGL	
	152	161	306

Figure 4







Figure 5

